



Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez les téléostéens

Sébastien Ferrari

► To cite this version:

Sébastien Ferrari. Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez les téléostéens. Sciences agricoles. Université de La Rochelle, 2014. Français. NNT : 2014LAROS038 . tel-01268172

HAL Id: tel-01268172

<https://theses.hal.science/tel-01268172>

Submitted on 4 Feb 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**CARACTÉRISATION, VARIABILITÉ ET HERITABILITÉ
DES TRAITS DE PERSONNALITÉ CHEZ LES
TÉLÉOSTÉENS.**

JURY :

Marie- Laure BÉGOUT
Béatrice CHATAIN
Agnès BARDONNET
Jean-François BAROILLER
Christel LEFRANÇOIS
François-Xavier
DECHAUME-MONCHARMONT

CR, IFREMER, La Rochelle
CR, IFREMER, Palavas-les-Flots
DR INRA Saint-Pée
DR, CIRAD
MCF Univ. de La Rochelle
MCF (HDR), Univ. de Dijon

Directrice de thèse
Codirectrice de thèse
Rapporteur
Examinateur
Examinatrice
Rapporteur



UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE

ÉCOLE DOCTORALE
Sciences pour l'Environnement – Gay Lussac (GL)

Laboratoire Ressources Halieutiques de La Rochelle, IFREMER L'Houmeau

THÈSE
présentée par :
Sébastien FERRARI

Soutenue le 18 Décembre 2014
pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université de La Rochelle
Discipline : Physiologie, biologie des organismes, populations, interactions.

Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez les téléostéens.

JURY :

François-Xavier DECHAUME-MONCHARMONT	MCF (HDR), Univ. de Dijon DR	Rapporteur
Agnès BARDONNET	INRA Saint-Pée	Rapporteur
Christel LEFRANÇOIS	MCF Univ. de La Rochelle	Examinatrice
Jean-François BAROILLER	DR, CIRAD	Examineur
Béatrice CHATAIN	CR, IFREMER, Palavas-les-Flots	Examinatrice
Marie- Laure BÉGOUT	CR, IFREMER, La Rochelle	Examinatrice

*« Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes,
mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements »*

Charles Darwin

REMERCIEMENTS

Depuis mon plus jeune âge, lorsqu'on me demandait à l'école ce que je voulais faire plus tard comme métier, je répondais « Chercheur ». C'est donc un énorme plaisir pour moi de pouvoir présenter cette thèse, la route est encore longue avant d'y arriver, mais c'est déjà un bon début ! Ces trois années étaient un grand moment de plaisir, et j'espère que l'histoire ne s'arrêtera pas là.

Une thèse est avant tout un travail collaboratif, et nombreuses sont les personnes ayant contribué de près ou de loin à ces travaux. Je tiens donc à m'excuser par avance auprès de tous ceux que je pourrais oublier.

Pour commencer, je veux remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail, Agnès Bardonnnet et François-Xavier Dechaume-Moncharmont, les rapporteurs de cette thèse, mais aussi Christel Lefrançois et Jean François Baroiller.

C'est un honneur et un plaisir pour moi de vous présenter mes travaux.

Je souhaite également remercier Gérard Biais, directeur du laboratoire Ressources Halieutiques de La Rochelle pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Merci à Paco Bustamante, directeur de l'école doctorale Gay Lussac à La Rochelle, ainsi qu'à Jennifer de la Corte Gomez et Isabelle Hirsh pour le côté administratif de cette thèse à l'école doctorale.

Du côté du laboratoire Ifremer de La Rochelle, je remercie Joëlle Tricoïre pour les nombreux ordres de mission, les remboursements de frais, mais aussi pour ta joie et ta bonne humeur. Merci à Marie Pierre Lussier pour les courriers, les agendas et la gestion des voitures. Merci à toute l'équipe des halieutes, Yann Coupeau, Olivier Derrijd, Anne Boiron et Jean Pierre Léauté pour votre compagnie et votre bonne humeur, mais aussi pour m'avoir permis d'embarquer en mer et m'avoir fait découvrir votre métier. Lorsque je voyais des documentaires sur le travail de l'Ifremer et ses campagnes océanographiques, c'était aussi un rêve de pouvoir embarquer un jour en mer du côté des scientifiques ! Un grand merci à Didier Leguay, ou plutôt devrais-je dire le « Mac Gyver » du labo ! Merci pour tous les systèmes expérimentaux, la fabrication des labyrinthes, open field et j'en passe, mais aussi pour les coups de main lors des biométries, l'entretien de mes petits bars, les bons conseils, et surtout merci pour ta grande joie de vivre et ton humour sans faille permettant de travailler dans la bonne ambiance ! Merci à Lucette Joissard pour les coups de pouce en biochimie et le nourrissage des poissons, à Lilian Ducci (et Didier) pour avoir construit un système d'élevage « sécurisé », qui m'a permis de ne (quasiment) pas perdre de poissons et de passer mes week-end confiant ! Merci à Pauline Cajeri et Fabien Aubert, les benthologues, pour tous les bons moments passés (et il y en aura d'autres) !! Merci aussi à Caroline Vignet pour les discussions Ethovision et pour t'être occupée de mes poissons.

Merci à Samuel Péan pour tes logiciels, en particulier ODRec qui m'a bien aidé dans l'analyse de certains comportements. Merci à Claire Rocancourt pour les colorations de branchies, et à Cathy Haget pour les nombreux coups de main à Palavas lors des marquages, biométries et dissections, mais aussi pour les petits zebras ! Merci aussi à Céline Vérité pour avoir partagé les pauses détente et cigarettes, et à Gabriel Charpentier pour l'organisation des mémorables Sardine Party !

Du côté du laboratoire de Palavas, un grand merci aux techniciens de choc : Alain Vergnet, Marie Odile Vidal et François Ruelle! Merci pour tout, pour avoir produit et élevé les milliers de bars utilisés dans cette étude, merci d'avoir toujours été disponibles pour répondre à mes questions, pour votre expérience, pour les grandes et longues journées de marquages et de tests de personnalité. Merci à Alain encore une fois pour la Vergnomatic® qui m'a fait gagner énormément de temps, ainsi que pour les réglages des protocoles de communication, des balances automatiques, le prêt des lecteurs de tag, etc. ! Merci à tous pour l'attention que vous avez portée à mes petits bars ! Merci à Thibault Geoffroy pour les réglages, les programmations et les prêts des oxymètres. Merci à tous ceux de Palavas avec qui j'ai pu travailler ou discuter, Cyrille Przyzbila, Gilbert Dutto, Christian Fauvel, Philippe Cacot, Denis Covès, Stéphane Lallement, Cédric Villard... Merci à Julie Colleter pour avoir partagé les salles d'élevage, et ton bureau pendant quelques jours. Merci à Emmanuel Rezzouk, responsable du site de Palavas pour les autorisations de travail et le « prêt » des salles. Merci à Ludovic Leclerc pour les nombreux coups de main lors des biométries mais aussi pour t'être occupé de mes poissons !

Je souhaite remercier particulièrement Marc Vandeputte, pour les précieux conseils et relectures, mais aussi pour les discussions statistiques et scientifiques, les macro excel géniales et j'en passe ! Merci aussi à François Allal pour les discussions, les fichiers automatisés pour la respiro, les coups de main lors des biométries et dissections, etc...! Merci à vous.

Du côté des stagiaires et ingénieurs, je tiens à remercier Romain Theysset pour les manip que nous avons faites ensemble. Un grand merci à Tatiana Colchen pour les manip réalisées et pour notre collaboration ayant abouti à un joli papier ! Tu feras une très belle thèse, j'en suis sûr ! Bon courage pour la suite ! Un grand merci aussi à Khaled Horri, pour les analyses et les modèles d'héritabilité, pour notre collaboration qui va bientôt aboutir à un super article !! Bon courage aussi pour ta thèse qui commence. Je remercie également Sarah Féry pour les manip sociabilité, pour ta grande rigueur, tes bons conseils et tout le reste, mais ça, j'y reviendrai. Merci à tous pour votre excellent travail ;) !

Du côté du projet Copewell, je souhaite remercier en particulier Maria Filipa Castanheira et Catarina Martins pour les discussions sur le coping style, les comparaisons bar /daurade, les conseils, les analyses cortisol, etc. Merci aussi à Sonia Rey et Simon MacKenzie pour les discussions intéressantes sur la personnalité des poissons, ainsi que pour notre collaboration qui aboutira aussi à un super article d'ici très peu de temps. Merci à Erik

Höglund et Øyvind Øverli et Lars Ebbesson, pour les discussions intéressantes sur l'analyse du coping style, l'analyse des monoamines, la dissection des cerveaux, et aussi les quelques apéro à l'hôtel ! Merci à Tore Kristiansen, coordinateur du projet, pour la bouteille de porto offerte avant que je démarre cette thèse lors du premier meeting Copewell à Estoril, grâce au logo Copewell que j'ai réalisé et qui figure maintenant sur de nombreux supports ! Il va bientôt être l'heure d'ouvrir enfin cette bouteille que je garde depuis plus de trois ans maintenant ! Je remercie Felicity Huntingford pour les discussions et conseils mais aussi pour avoir permis à Sarah d'assister au WFC à Edimbourg.

Merci à David MacKenzie pour m'avoir permis de réaliser cette manip métabolisme et coping style à laquelle je tenais tant, manip qui aboutira aussi à un joli papier dans un futur proche. Merci aussi pour l'aide sur l'analyse des données métaboliques. Merci aussi à Marie Durollet pour le coup de main sur le traitement des données métabolisme. Merci à Romain Bertrand, dit « Beber » pour ta super macro m'ayant fait gagné des semaines de travail !! Merci à Julien Cote pour les comités de thèse très constructifs, pour les conseils d'analyse, pour ta disponibilité et ta réactivité, mais aussi pour l'aide sur les modèles mixtes de l'analyse de la plasticité et de la répétabilité avec R. Merci beaucoup.

Du côté de mes amis, je voudrais vous remercier ... d'être mes amis, tout simplement ! Vous remercier pour tous les moments de détente et de fête qui m'ont permis de me libérer l'esprit. Merci à Zozo, July, Pika, Aurel, Sac, Nico, Flo, Julien, Jess, Irma, Max, Djé, Clovis, JB, Pago, Beut, Fab, Pauline et tous les autres ☺ . L'encyclopédie est presque terminée !!

Un grand merci à Charlène Brilouet, graphiste, pour avoir réalisé cette couverture de thèse.

Merci aussi à ma toute famille d'avoir cru en moi : Doudoune, Mimi, Laurent, Mireille, Cyril, Simone, Brice, Laura, Adrien, Guillaume, Céline, Sasha, Victor, Yoann, Axel, Yann, ma grand mère Michelle, Patrick et Marika.

Merci à tous les poissons « morts pour la science » dans le cadre de cette thèse et dont le sacrifice contribuera je l'espère à faire progresser les connaissances !

Un grand merci à Sandie Millot, pour avoir toujours été disponible, pour tes conseils, pour t'être occupée de mes poissons, les relectures et tout le reste ! Un merci spécial à David Benhaïm, pour les partages d'hôtel, les bons moments passés lors des congrès, mais aussi pour tout nos échanges et collaborations, qui j'espère ne font que commencer. Un grand merci ! Je suis très heureux d'avoir pu écrire ce troisième *opus*, suite de vos brillantes thèses respectives que je connais maintenant sur le bout des doigts.

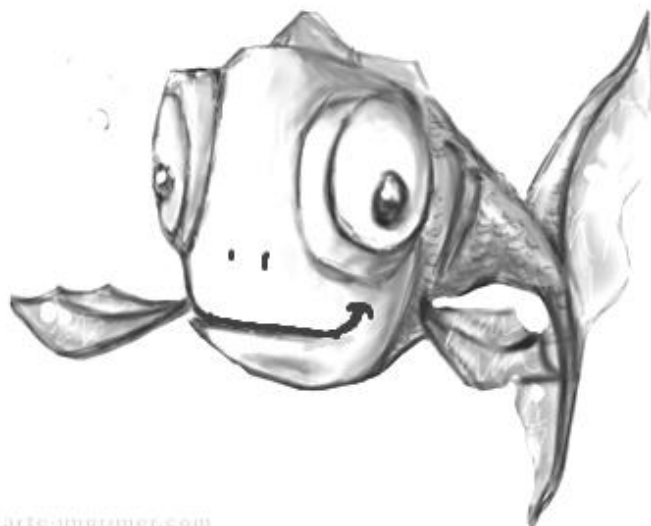
Merci à Xavier Cousin, pour m'avoir prêté l'appartement à Montpellier, pour les conseils et discussions stats et pour tes superbes gâteaux !

Enfin, du côté de mes encadrants, un grand merci à Jean François Baroiller pour avoir accepté de codiriger cette thèse et l'avoir rendue possible par l'intermédiaire du CIRAD.

Je souhaite tout particulièrement remercier Béatrice Chatain et Marie Laure Bégout, pour m'avoir permis de réaliser cette thèse. Merci de vous être démenées pour rendre la réalisation de cette thèse possible. Merci Béatrice (et Serge) pour m'avoir accueilli chez vous, m'avoir fait découvrir la féérie des noëls alsaciens, pour m'avoir fait confiance et aidé quand j'en avais besoin. Merci aussi pour les nombreuses discussions et conseils avisés, pour ta capacité incroyable à solutionner toutes situations et j'en passe. Un très grand merci.

Et pour finir, je souhaite spécialement remercier Marie Laure Bégout. Mille mercis pour tout ! Merci pour m'avoir permis de découvrir ce monde passionnant du comportement animal. Merci de m'avoir fait confiance, depuis mon stage de master 2, et de m'avoir permis de réaliser cette thèse. Merci de m'avoir laissé réaliser toutes les expériences que je souhaitais, pour m'avoir fourni les moyens techniques, scientifiques et financiers. Merci pour m'avoir hébergé, aidé, conseillé et guidé lorsque j'en avais besoin tout au long de ces années. Pas évident d'exprimer à quel point je vous remercie toutes les deux par ces quelques lignes, mais le cœur y est ! J'espère sincèrement que nous pourrons collaborer à nouveau dans de futurs projets.

Enfin, avec tout mon amour, un énorme merci à Sarah, ma compagne, pour m'avoir supporté et aidé, surtout en cette fin de thèse. Merci pour tout, pour tes coups de main, pour l'intendance, pour ta bonne humeur, pour ton implication et pour ton soutien sans faille tout au long de cette thèse.



Sébastien FERRARI

Né le 21/05/1986
sebferrari@hotmail.fr



POST DOCTORANT

DOMAINES DE COMPETENCE

- Ecologie comportementale – Ethologie – Ecophysiologie – Zootechnie
- Echantillonnage – Analyses de données uni et multi variées – Modèles linéaires généralisés et mixtes
- Conduite de projets – Encadrement

FORMATION

2011-2014	Doctorat – Physiologie, biologie des organismes, populations, interactions – CIRAD – IFREMER UMR110 INTREPID (Avec félicitations)
2009-2011	Master – Gestion de l'environnement, approche intégrée des écosystèmes littoraux – Mention bien – Université La Rochelle
2008-2009	Licence – Biologie écologie marine – Université La Rochelle
2006-2008	DEUG – Science du vivant et géosciences – Université d'Angers

EXPERIENCES PROFESSIONNELLES (Biologie & Environnement)

12/2011-12/2014	Chargé de recherche – Ecologie comportementale – CIRAD – IFREMER Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez le bar Européen (Thèse de doctorat).
07/2011-10/2011	Ingénieur chargé d'étude – Centre Régional d'Expérimentation et Application Aquacole – IFREMER
01/2011-06/2011	Chargé d'étude stagiaire – IFREMER– CNRS Technicien Halieutique – IFREMER – Campagne SOLPER 2011 & 2012 – Mesures biométriques et identification.
09/2009-06/2011	Technicien de laboratoire junior – Siliker – Microbiologie Alimentaire
04/2010-04/2010	Chargé d'étude stagiaire – Centre d'Etudes Biologiques de Chizé
04/2009-07/2009	Chargé d'étude stagiaire – Centre d'Etudes Biologiques de Chizé

OUTILS

Formations

- Formation « Expérimentation Animale » niveau 1 concepteur de Projets – ONIRIS – Ecole vétérinaire de Nantes
- Formation vétérinaire « Prophylaxie sanitaire et pathologies des poissons » – Cabinet vétérinaire VET'EAU
- Formation Sauveteur Secouriste du Travail – INRS - Protection civile
- Formation ArcGis – Université de La Rochelle
- Formation EthoVision XT – Noldus
- Formation « Personalities in animals and humans- The importance of studying individual differences » Uppsala University - Suède

Informatique

- Environnement : Microsoft, Linux
- Gestion de base de données : Access
- Gestion de bases bibliographiques : EndNote, Mendeley
- Analyses d'images et vidéo : EthoVision XT, Etholog, ImageJ, InkScape
- Analyses statistiques : R, Statistica
- Modélisation : Telemac 2D

ENCADREMENT DE STAGES

02/2012-06/2012

Romain Theysset (Stage master 1): Caractérisation des traits de personnalité avec un test en groupe de résistance à l'hypoxie et des tests individuels de réponse à une Stimulation Mécano-Acoustique.

02/2013-09/2013

Tatiana Colchen (Stage master 1) : Relation entre comportements d'auto alimentation et traits de personnalité.

03/2014-07/2014

Khaled Horri (Stage master 2): Effet du génotype sur la personnalité : évaluation des corrélations génétiques entre personnalité et caractères phénotypiques en utilisant une approche familiale chez le bar Européen.

03/2014-06/2014

Sarah Fery (CDD ingénieur chargé d'étude) : Lien entre traits de personnalité, sociabilité et comportement d'auto alimentation chez le bar Européen.

PUBLICATIONS et RAPPORTS

Publications de Rang A

Ferrari S., Chatain B., Cousin X., Leguay D., Vergnet A., Vidal M.O., Vandeputte M., Bégout M.L. 2014. Early individual electronic identification of sea bass using RFID microtags: a first example of early phenotyping of sex-related growth. *Aquaculture*, 426–427: 165–171.

Ferrari S., Benhaïm D., Colchen T., Chatain B., Bégout M.L. 2014. Linking self-feeding behaviour and personality traits in European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Applied Animal Behaviour*, 161 (2014) 131-141.

Ferrari S., Millot S., Leguay D., Chatain B., Bégout M.L. 2014. Consistency of European sea bass coping styles: A life history approach. *Applied Animal Behavior*. (Accepted).

Ferrari S., Leguay D., Vergnet A., Vidal M.O., Chatain B., Bégout M.L. Does unpredictability in food supply during early life influence boldness in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*? *Aquaculture* (Soumis)

Ferrari S., Benhaim D., Colchen T., Chatain B., Begout M.L. Personality and cognition in European sea bass: A self feeding approach. (En préparation).

Ferrari S., Rey S., Hoglund E., Øverly Ø., Chatain B., Begout M.L. Screening for hypoxia tolerance predicts physiological responses and gene expression in European sea bass. (En préparation).

Ferrari S., Horri K., Vandeputte M., Allal F., Chatain B., Begout M-L. Heritability of boldness and correlations with phenotypic characters using a familial approach. (En préparation).

Benhaim D., **Ferrari S.**, Chatain B., Begout M.L. Shy fish prefer familiar congeners. *Animal behavior* (Soumis).

Rapports

Ferrari S. 2011 Caractérisation des traits de personnalité chez le bar Européen *Dicentrarchus labrax* – Adaptation de tests utilisés chez les salmonidés. Encadrement : Marie Laure Bégout

Ferrari S. 2009 Influence du statut reproducteur sur le comportement de thermorégulation chez le lézard des murailles *Podarcis muralis*. Encadrement : Olivier Lourdais & Maxime Le Hénanff

Conférences internationales

Ferrari S., Chatain B., Baroiller J.F., Bégout M.–L. 2012. Enhancing Fish welfare by studying behavior: How personality traits can reveal adaptation potential. World Fisheries Congress, Edinburgh (7–11 May), poster.

Chatain B., **Ferrari S.**, Bégout M.–L., Vergnet A., Vidal M.–O., Ruelle F., Vandeputte M. 2012. Early individual electronic identification of sea bass using RFID microglasstags: a first example of early phenotyping of sex related growth. AQUA 2012, Global aquaculture securing our future, Meeting EAS–WAS, September 1–5 2012, Praha, Czech Republic.

Ferrari S., Benhaïm D., Chatain B., Baroiller J.F., Bégout M.L. 2013. Enhancing fish welfare by studying behavior: how can personality trait reveal adaptation potential? Annual conference of the Society for Experimental Biology, Valence, Espagne, 4–6 Juillet 2013. Présentation orale.

Ferrari S., Benhaïm D., Theysset R., Chatain B., Bégout M.–L. 2013. Personality traits identification based upon hypoxia test and mecano acoustic stimulation in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Annual conference of the Society for Experimental Biology, Valence, Espagne, 4–6 Juillet 2013, poster.

Ferrari S., Benhaïm D., Theysset R., Chatain B., Bégout M.–L. 2013. Personality traits identification based upon hypoxia test and mecano acoustic stimulation in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). International Conference of Aquaculture Indonesia, Bandung, West Java, Indonesia 20–21 June 2014, poster.

Baffoun A., Morales ÇA., Negrín–Báez D., Soula M., **Ferrari S.**, Bégout M.L., Chatain B., Zamorano M.J., Navarro A., Ferrer Ç.M.A., Afonso J.M. 2014. Evaluation of RFID Nonatec tagging system on gilthead seabream fingerling (*Sparus aurata* L.): effects on growth, survival and welfare. EAS 2014 San Sebastian, Spain.

Ferrari S., Castanheira M.F., Evensen T.H., Martins C., Oliveira C., Conceição, Chatain B., Damsgård B., Bégout M.L. 2014. Comparative characterization of coping styles in three European farmed fish species. EAS 2014, 14–17 October 2014, Donostia–San Sebastián, Spain. Présentation orale.

Conférences nationales

Ferrari S., Chatain B., Baroiller J.-F., Bégout M.-L. 2012. Améliorer le bien-être en étudiant le comportement : comment les traits de personnalité peuvent ils être révélateurs du potentiel adaptatif des poissons (projet européen COPEWELL). JRFP, Paris, juillet 2012. Présentation orale.

Bégout M.-L., Cousin X., Haget C., Joassard L., Leguay D., **Ferrari S.**, Lucas J., Perrichon P., Vignet C. 2013. Des traits biologiques individuels aux conséquences sur les populations : exemples de travaux de la Plateforme Ecophysiologie des Poissons. Conférencière invitée à l'AFSTAL – Association Française des Sciences et Techniques des Animaux de Laboratoire, réunion annuelle, Octobre 2013, La Rochelle.

Ferrari S., Leguay D., Vergnet A., Vidal M.O., Chatain B., Bégout M.L. 2014. Does unpredictability in food supply during early life influence boldness in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*? Colloque Annuel Société Française pour l'Etude du Comportement Animal 2014, Paris, (8–10 juillet), France. Poster

Ferrari S., Benhaïm D., Colchen T., Chatain B., Bégout M.L. 2014. Linking self-feeding behaviour and personality traits in European seabass, *Dicentrarchus labrax*. Colloque Annuel Société Française pour l'Etude du Comportement Animal 2014, (8–10 juillet), Paris, France. Présentation orale.

Ferrari S., Chatain B., Bégout M.-L., Vergnet A., Vidal M.-O., Ruelle F., Vandeputte M. 2012. Early individual electronic identification of sea bass using RFID microglasstags: a first example of early phenotyping of sex related growth. Rencontres Télémétrie 2013, 15 Octobre 2013, Pessac, France.

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Sport -Musique

- Ceinture noire 1^{ère} dan de judo/ju-jitsu (10 ans de pratique)
- Piano (10 ans dont 3 au conservatoire national de La Rochelle)
- Musique Assistée par Ordinateur (MAO)

Divers

- Passionné par la nature et tout ce qui s'y approche, j'aime observer, comprendre, apprendre et transmettre mes connaissances
- Informatique
- Voyages

SOMMAIRE

CONTEXTE DE L'ETUDE	1
BREF HISTORIQUE DE L'ELEVAGE PISCICOLE	1
ELEVAGE ET SELECTION GENETIQUE... VERS L'INTENSIFICATION	2
INTENSIFICATION DE L'ELEVAGE ET PRISE EN COMPTE DU BIEN-ETRE	2
PRESENTATION DU PROJET FP7 COPEWELL	4
<i>WP1 : Coping styles</i>	5
<i>WP2 : Appraisal</i>	5
<i>WP3 : Allostasie</i>	5
<i>WP4 : Ontogénie</i>	5
<i>Financements</i>	6
INTRODUCTION GENERALE	7
1. VARIABILITE INTER-SPECIFIQUE ET INTRA-SPECIFIQUE	9
2. « TRAITS D'HUMOUR »	12
3. TRAITS DE PERSONNALITE	13
3.1. DE L'HOMME A L'ANIMAL	13
3.2. ONTOLOGIE ET TERMINOLOGIE	14
3.2.1. <i>Trait</i>	15
3.2.2. <i>Tempérament</i>	15
3.3. LES AXES MAJEURS DE LA PERSONNALITE ANIMALE	16
<i>Axe 1 : Audace</i>	16
<i>Axe 2 : Exploration – évitement, néophobie</i>	17
<i>Axe 3 : Activité</i>	17
<i>Axe 4 : Agressivité</i>	18
<i>Axe 5 : Sociabilité</i>	18
<i>Remarque : Les différents tests utilisés</i>	18
3.4. SYNDROMES COMPORTEMENTAUX	19
4. INTEGRATION DU COMPORTEMENT ET DE LA PHYSIOLOGIE :	21
4.1. SYNDROME DU RYTHME DE VIE (<i>PACE OF LIFE SYNDROME</i>)	21
4.2. COPING STYLE	22
4.3. LA STRATEGIE DU FAUCON ET DE LA COLOMBE « <i>HAWK-DOVE STRATEGY</i> »	24
5. PHYSIOLOGIE ET NEUROPHYSIOLOGIE DU COPING STYLE	24
5.1. STRESS ET REGULATION DU STRESS	24
5.2. LE METABOLISME	28
6. COHERENCE DANS LE TEMPS, STABILITE, PLASTICITE	30
6.1. STABILITE <i>VERSUS</i> CONSTANCE	30
6.2. PERSONNALITE <i>VERSUS</i> PLASTICITE : NORMES DE REACTIONS COMPORTEMENTALES	31
7. COEVOLUTION DES TYPES COMPORTEMENTAUX ET SELECTION FREQUENCE-DEPENDANTE EN MILIEU NATUREL	32

8. PERSONNALITE ET APPROVISIONNEMENT EN NOURRITURE	33
9. IMPACT ECOLOGIQUE (ET ECONOMIQUE) DE LA PERSONNALITE ANIMALE	34
10. HERITABILITE DU COPING STYLE	35
11. LE CONCEPT DE SELECTION ET DE DOMESTICATION	36
12. LE CONCEPT D'ADAPTATION ET DE BIEN-ETRE	40
 MATERIEL BIOLOGIQUE D'ETUDE : LE BAR EUROPEEN, <i>DICENTRARCHUS LABRAX</i> (LINNAEUS, 1758)	43
1. HISTORIQUE	43
2. POSITION SYSTEMATIQUE	43
3. MORPHOLOGIE	44
4. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET BIOLOGIE	45
5. MATURITE SEXUELLE	46
6. COMPORTEMENT SOCIAL	46
7. POPULATIONS EXPERIMENTALES	46
 OBJECTIFS DE L'ETUDE	48
STRUCTURE DE LA THESE	49
 PARTIE 1. CARACTERISATION ET VARIABILITE DES TRAITS DE PERSONNALITE	53
CHAPITRE 1: EARLY INDIVIDUAL ELECTRONIC IDENTIFICATION OF SEABASS USING RFID MICROTAGS: A FIRST EXAMPLE OF EARLY PHENOTYPING OF SEX-RELATED GROWTH (ARTICLE I).	55
1. INTRODUCTION	61
2. EQUIPMENT AND METHOD	63
2.1. <i>Origin of the fish and experimental structure:</i>	63
2.2. <i>Anesthesia and tagging procedure</i>	64
2.3. <i>Survival, growth monitoring and early sex effects:</i>	64
2.4. <i>Effect on swimming behavior (Exp. 2):</i>	65
2.5. <i>Data Analyses</i>	66
3. RESULTS	67
3.1. <i>Survival, growth, tag retention & early sex-related differences:</i>	67
3.2. <i>Tagging effects on swimming behavior and photomotor response to a light/dark change</i>	71
4. DISCUSSION	74
 CHAPITRE 2: CONSISTENCY OF EUROPEAN SEABASS COPING STYLE: A LIFE HISTORY APPROACH (ARTICLE II) 81	
1. INTRODUCTION	86
2. MATERIALS & METHODS	88
2.1. <i>Fish and experimental conditions</i>	88
2.2. <i>Individual-based tests</i>	90
2.2.1. <i>Feeding recovery test (test 1)</i>	90
2.2.2. <i>Aggression test (test 2)</i>	90
2.2.3. <i>Exploratory test in a T-maze (test3)</i>	91
2.2.4. <i>Restraint test (test4)</i>	92
2.3. <i>Group-based tests</i>	92
2.3.1. <i>Risk-taking test (test 5)</i>	92
2.3.2. <i>Hypoxia test (test 6)</i>	92

2.4. Physiological measurements	93
2.5. Individual stability.....	94
2.6. Data analysis	94
3. RESULTS	95
3.1. Individual variation	95
3.2. Individual consistency of behavioral and physiological responses over time and contexts.....	97
3.2.1. Individual-based tests.....	97
3.2.2. Group-based tests	99
3.3. Link between behavioral and physiological measurements	101
3.4. Cross-context consistency.....	104
3.5. Individual stability.....	105
4. DISCUSSION.....	106
4.1. Individual - vs. group-based tests in seabass.....	106
4.2. Cross-context consistency and individual stability.....	109
5. CONCLUSIONS.....	110

CHAPITRE 3: PERSONALITY TRAITS IDENTIFICATION BASED UPON HYPOXIA TEST AND MECANO ACOUSTIC STIMULATION IN EUROPEAN SEABASS (*DICENTRARCHUS LABRAX*) (POSTER). 119

CHAPITRE 4: COPING STYLE PREDICTS PHYSIOLOGICAL RESPONSES AND GENES EXPRESSION IN EUROPEAN SEABASS, *DICENTRARCHUS LABRAX* (ARTICLE III) 125

1. INTRODUCTION	130
2. MATERIAL AND METHODS	132
2.1. Fish and experimental conditions	132
2.2. Growth follow-up.....	132
2.3. Behavioral screening.....	133
2.4. Stress treatment	133
2.5. Cortisol dosing	134
2.6. Brain sampling and monoamines dosing.....	134
2.7 Brain sampling and gene expression	134
2.8. Data analyses	135
3. RESULTS	136
3.1. Growth performances.....	136
3.2. Physiological status	137
3.2.1. Plasmatic cortisol.....	137
3.2.2. Monoamines concentrations.....	138
3.2.3. Gene expression	142
4. DISCUSSION.....	142
4.1. Growth.....	142
4.2. Plasmatic cortisol.....	143
4.3. Brain monoamines.....	143

PARTIE 2. INTERACTION ENTRE TRAITS DE PERSONNALITE ET COMPORTEMENT ALIMENTAIRE. 147

CHAPITRE 5: FIRST LINKS BETWEEN SELF FEEDING BEHAVIOR AND PERSONALITY TRAITS IN EUROPEAN SEABASS, *DICENTRARCHUS LABRAX* (ARTICLE IV). 149

1. INTRODUCTION:	154
2. MATERIALS AND METHODS.....	156
2.1. Fish and experimental conditions	156

2.2. Food demand behavior and self-feeder apparatus.....	157
2.3. Evaluation of biological performances	157
2.4. Characterization of triggering categories.....	158
2.5. Characterization of personality traits	158
2.5.1. Restraint test	158
2.5.2. Open field test	158
2.6. Data analysis	159
3. RESULTS	160
3.1. Growth, sex ratio and social structure around the self-feeder	160
3.2. Responses to personality tests.....	161
3.3. Links between individual triggering activity and personality tests variables	163
3.3.1. Restraint test	163
3.3.2. Open field test	164
4. DISCUSSION.....	166

CHAPITRE 6: EST-CE QU'UN ENSEMBLE DE REPONSES COMPORTEMENTALES CARACTERISEES EN SITUATION INDIVIDUELLE ET EN SITUATION DE GROUPE REFLETE UN SYNDROME COMPORTEMENTAL CHEZ LE BAR, *DICENTRARCHUS LABRAX* (ARTICLE V)..... 175

1. INTRODUCTION	180
2. MATERIEL ET METHODES.....	182
2.1. Modèle biologique d'étude et conditions expérimentales d'élevage	182
2.2. Evaluation des performances de croissance.	183
2.3. Système d'auto-alimentation et comportement de demande alimentaire	183
2.3.1. Système d'auto-alimentation	183
2.3.2. Comportement de demande alimentaire.....	183
2.3. Caractérisation des traits de personnalité.....	184
2.3.1. Test en zone ouverte avec un refuge (open field with shelter, OFT).....	184
2.3.2. Test d'interaction sociale.....	186
2.3.3. Test de tolérance à l'hypoxie.....	188
2.4. Analyses statistiques.....	190
3. RESULTATS	191
3.1. Evaluation des performances de croissance.	191
3.2. Comportement de demande alimentaire	192
3.3. Caractérisation des traits de personnalité.....	192
3.3.1. Test en zone ouverte avec un refuge (OFT)	192
3.3.2. Test d'interactions sociales.....	193
3.3.3. Test de tolérance à l'hypoxie.....	194
3.4. Comparaison entre les tests.....	196
3.4.1. Comparaison des comportements observés lors du test en zone ouverte (OFT) et du test de tolérance à l'Hypoxie.....	196
3.4.2. Comparaison des comportements observés lors du test de sociabilité et du test de tolérance à l'Hypoxie	196
3.4.3. Comparaison des comportements observés lors du test en zone ouverte (OFT) et lors du test de sociabilité.	196
4. DISCUSSION.....	196
4.1. Structure sociale et performances de croissance.....	197
4.2. Test en zone ouverte (OFT)	198
4.3. Test de sociabilité	198
4.4. Test de tolérance à l'hypoxie	199
4.5. Syndrome comportemental	199
5. CONCLUSION	200

PARTIE 3. FACTEURS INFLUENÇANT LA PERSONNALITE ET LES REPONSES COMPORTEMENTALES. 203

CHAPITRE 7: DOES UNPREDICTABILITY IN FOOD SUPPLY DURING EARLY LIFE INFLUENCE GROWTH, HYPOXIA TOLERANCE AND BOLDNESS IN EUROPEAN SEABASS SELECTED FOR FASTING TOLERANCE? (ARTICLE VI).... 205

1. INTRODUCTION	211
2. MATERIALS AND METHODS	214
2.1. <i>Fish and experimental conditions</i>	214
2.2. <i>Evaluation of biological performances</i>	215
2.3. <i>Feeding treatments</i>	215
2.4. <i>Behavioral trials</i>	215
2.4.1. Hypoxia test.....	215
2.4.2. Boldness and Exploration test	216
2.5. <i>Data analysis</i>	217
3. RESULTS	218
3.1. <i>Growth performances</i>	218
3.2. <i>Hypoxia test</i>	220
3.3. <i>Exploration</i>	222
4. DISCUSSION.....	225

CHAPITRE 8: CARACTERISATION DE L'HERITABILITE DE TRAITS DE PERSONNALITE ET DES LIENS EXISTANTS AVEC DES TRAITS PHENOTYPIQUES DE PRODUCTION EN UTILISANT UNE APPROCHE FAMILIALE (ARTICLE VII)

..... 235

1. INTRODUCTION	239
2. MATERIEL ET METHODES.....	242
2.1. <i>Origine génétique des individus</i>	242
2.2. <i>Performances de croissance</i>	242
2.3. <i>Modèle de Croissance</i>	243
2.4. <i>Assignment de parenté</i>	243
2.5. <i>Caractérisation des coping styles</i>	243
2.5.1. Test d'hypoxie (Hypoxia test)	243
2.5.2. Test de prise de risque (Risk-taking).....	245
2.6. <i>Analyses statistiques</i>	245
2.6.1. Caractères étudiés	245
2.6.2. Héritabilités et corrélations	246
3. RESULTATS	247
3.1. <i>Assignment de parenté</i>	247
3.2. <i>Modèle de croissance</i>	247
3.2.1. Coefficient de croissance thermique (TGC)	248
3.2.2. Facteur de condition K.....	248
3.3. <i>Traits de personnalité (coping style)</i>	249
3.4. <i>Héritabilités et corrélations entre les caractères</i>	250
3.4.1. Héritabilité des performances de croissance.....	250
3.4.2. Héritabilité des traits de personnalité	250
3.4.3. Corrélations entre coping style et caractères phénotypiques	253
4. DISCUSSION.....	255
4.1. <i>Assignment de parenté</i>	255
4.2. <i>Croissance</i>	255
4.3. <i>Héritabilité des performances de croissance</i>	255
4.4. <i>Caractérisation des caractères de personnalité, corrélations phénotypiques et génétiques</i>	256
4.5. <i>Héritabilité des traits de personnalité</i>	258

4.6. <i>Corrélations entre traits de personnalité et caractères phénotypique de production</i>	259
5. CONCLUSIONS	261
6. PERSPECTIVES	261
DISCUSSION GENERALE	269
1. CARACTERISATION ET VARIABILITE DES TRAITS DE PERSONNALITE	271
1.2. <i>Approche en situation individuelle</i>	272
1.3. <i>Les variables pertinentes pour caractériser la personnalité en situation individuelle chez le bar</i>	273
1.4. <i>Les facteurs à prendre en compte</i>	274
1.5. <i>Approche en situation de groupe</i>	274
1.6. <i>Les variables pertinentes pour caractériser la personnalité en situation de groupe chez le bar</i>	275
1.7. <i>Les facteurs à prendre en compte</i>	276
1.8. <i>Conclusions</i>	277
2. VARIABILITE DES TRAITS DE PERSONNALITE	278
3. LA COHERENCE DANS LE TEMPS ET ENTRE LES SITUATIONS	280
4. LIENS ENTRE COMPORTEMENT ET PHYSIOLOGIE	281
5. HERITABILITE DU COPING STYLE	285
PERSPECTIVES	291
CONCLUSION	293
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	297

CONTEXTE DE L'ETUDE

Tous les termes et définitions abordés dans la partie suivante seront repris en détails tout au long de ce manuscrit. Cette partie contexte se veut seulement une vue générale permettant d'aborder de manière simple ce qui a amené à la réalisation de ces travaux de thèse.

Bref historique de l'élevage piscicole

L'Homme a commencé à élever des animaux pour subvenir à ses besoins, il y a environ 10 000 ans avec le développement des sociétés grégaires (Troy et al., 2001). Les premières espèces domestiquées furent alors la chèvre, le mouton et le bœuf (Troy et al., 2001). L'élevage d'espèces aquatiques est apparu plus tardivement, avec l'exploitation d'étangs de carpes (*Cyprinus carpio*) en Chine, ou de tilapias en Egypte il y a environ 3 500 ans (Balon, 1995; Liao and Huang, 2000). Les romains élevaient aussi des téléostéens en viviers. En Europe, le développement de la pisciculture en étang accompagne au Moyen - Âge celui des abbayes. Au XVème siècle, des téléostéens capturés lors de leur remontée vers les eaux saumâtres sont maintenus en bassins. On attribue toutefois les premiers essais d'élevage à Jacobi qui réussit les premières fécondations artificielles de salmonidés en 1763. Dans les années 1950, devant les prévisions d'augmentation de la population mondiale, et les faibles possibilités d'accroître l'intensification des productions de protéines d'origine terrestre (animales et végétales), les pays développés se sont tournés vers les ressources tirées du milieu aquatique. La croissance des volumes pêchés se heurta rapidement à l'épuisement des ressources (Pauly et al., 2002). Cette situation s'explique par un plafonnement des apports de la pêche résultant de stocks en forte baisse (30% sont surexploités ou épuisés, Pauly et al., 2002) et une consommation mondiale de produits aquatiques en hausse constante, du fait de l'accroissement de la population et de l'alimentation individuelle privilégiant davantage les produits de la mer dans les sociétés occidentales (de 11 kg/hab. en 1970 à 18,9 kg/hab. en 2011, (FAO, 2008 ; ftp://ftp.fao.org/FI/STAT/summary/FBS_bycontinent.pdf)).

Cette situation favorise alors la pleine expansion de l'aquaculture et de nouvelles méthodes sont mises en place, qui soutiennent un développement important au niveau mondial au début des années 70, par l'utilisation de techniques modernes et l'élevage d'espèces nouvelles, notamment en milieu marin (*mariculture*).

De nos jours, les produits de la pêche et de l'aquaculture offrent à plus de 3 milliards de personnes environ 20 % de leurs apports en protéines animales, et pour plus de 1.3 milliards de gens, ils représentent 15 % du total de leurs apports en nourriture. Les poissons sont devenus la première source de protéines et de nutriments essentiels à l'alimentation

humaine. Le besoin de nourrir une population mondiale sans cesse croissante, ainsi que l'augmentation de la demande pour ce type de nourriture entraîne une pression forte sur les ressources naturelles. Parallèlement, le secteur de l'aquaculture a été multiplié par douze dans les trente dernières années et croît de 8 % par an, devenant le secteur le plus croissant dans les productions alimentaires (Source: [HLPE, 2014: Sustainable fisheries and aquaculture for food security and nutrition. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome 2014](#)).

Elevage et sélection génétique... Vers l'intensification

Les techniques de productions animales permettent aujourd'hui de subvenir en grande partie aux besoins alimentaires humains, mais ne sont pas sans conséquences sur les espèces élevées et l'environnement. Soucieux de la productivité de leurs exploitations (et donc de leurs revenus), les hommes ont donc domestiqués puis sélectionnés les individus ayant les meilleures aptitudes (taille, croissance, résistance aux pathogènes...) afin d'avoir des espèces plus robustes et à plus forte valeur commerciale (taille, poids, morphologie...). Cependant, la sélection pour la croissance implique souvent entre autres, une sélection des comportements agressifs, obligeant par exemple les éleveurs à couper les becs des volailles ou encore les queues des porcelets, et en salmoniculture à trier de façon répétée les cheptels pour homogénéiser les tailles et réduire les agressions et la compétition interindividuelle.

Intensification de l'élevage et prise en compte du bien-être

Le développement des techniques d'élevage et de sélection a permis un net accroissement des productions animales, mais « l'intensification de l'élevage a considérablement modifié les conditions de vie des animaux. La claustration, les grands effectifs, la restriction de l'espace disponible, l'appauvrissement en stimulations de l'environnement et la perturbation des relations sociales sont devenus la règle [...]. Cette situation est jugée d'autant moins tolérable pour une frange croissante de l'opinion publique, qu'elle est perçue comme étant à l'origine d'une profonde souffrance physique et mentale chez les animaux qui y sont soumis » ([Larrère, 2007](#)).

Le terme souffrance physique et mentale illustre bien le fait que les animaux sont reconnus comme des êtres « sensibles ». La sensibilité est la capacité à ressentir et exprimer des états mentaux comme la douleur, le plaisir ou la souffrance. Cependant, en raison de l'absence de langage verbal, le vécu émotionnel de l'animal est difficilement mesurable, rendant son étude difficile. Même si le degré exact de sensibilité de chaque espèce animale est peu connu, les lois de protection des animaux découlent de la reconnaissance de cette dernière. C'est le cas de la loi dite « Nature » du 10 juillet 1976, laquelle stipule que « tout animal étant un être sensible doit être placé par son propriétaire dans des conditions

compatibles avec les impératifs biologiques de son espèce ». Puisque les animaux ne sont pas des machines, on ne peut pas les traiter comme des objets ou outils de production. Ainsi, le traité d'Amsterdam de 1999 a fait passer les animaux de statut de bien marchands à celui d'êtres sensibles. La prise en compte du bien-être animal répond donc aux attentes de nos sociétés, et la question sociétale de la protection des animaux vivant sous la dépendance de l'homme a ensuite été traduite en termes de recherche. La première étape consistait à préciser la définition de **bien-être**. Selon (Hughes, 1976), le bien-être est défini comme un état d'harmonie entre l'animal et son environnement, aboutissant à la complète santé mentale et physique. Broom, (1987) propose de partir du concept de « coping », littéralement « je fais avec », qu'il utilise au sens de **l'adaptation à l'environnement**, en relation avec l'homéostasie. Si l'individu puise dans ses réserves pour s'adapter, alors le bien-être est faible et inversement. Cela correspond en physiologie à des modifications internes en réponse à des stimuli externes (activation de la branche ortho-sympathique du système nerveux autonome et de l'axe corticotrope). Or, ces réactions ne sont déclenchées que si l'animal perçoit la situation comme une menace pour lui (Mason, 1971).

Ainsi, le bien-être est considéré comme une expérience subjective de l'animal, un état mental correspondant à l'absence d'émotions négatives (peur, faim, soif, douleur, etc.) et vraisemblablement à la présence d'émotions positives (confort, plaisir) (Dawkins, 1983; Duncan I.J.H., 2005). Ici, le terme « expérience subjective » renvoie à **l'individualité de la perception du stress**, et donc la réponse sera étroitement liée à la personnalité de l'individu. C'est pourquoi l'étude des **traits de personnalité** peut aider à mieux comprendre le **registre adaptatif** des animaux et donc le potentiel de bien-être individuel.

L'objectif général de cette thèse est de contribuer à une meilleure compréhension de l'adaptation des téléostéens aux conditions d'élevage par l'étude des traits de personnalité.

PRESENTATION DU PROJET FP7 COPEWELL

L'intégralité des travaux présentés dans ce manuscrit concernent le bar européen *Dicentrarchus labrax* (L.). Le bar est une espèce de première importance économique pour l'Europe. Sa production ne cesse de croître depuis les années 1990. En 2000, sa production selon l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), était d'environ 50 000 tonnes contre plus de 150 000 tonnes en 2012 (http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/fr).

Cette thèse s'inscrit dans la suite d'une série de travaux initiés en 2005 par Sandie Millot dans sa thèse intitulée « Domestication, sélection et comportement du bar », suivie en 2009 par celle de David Benhaïm, intitulée « Caractérisation de l'adaptation des téléostéens en élevage : plasticité et effets de la domestication ».

A l'issue de ces travaux en particulier, mais aussi au sein des consortiums européens tels que ceux des FP6 SEAFOODplus ou FASTFISH et nationaux (GDR Ifremer-INRA : AGπ) dont ils faisaient partie et qui ont permis l'émergence du projet COPEWELL, il est apparu que le registre adaptatif des téléostéens devait être mieux analysé et, qu'en particulier, **l'individualité i.e. la personnalité** devait être mieux comprise car elle constitue **une des composantes de ce registre adaptatif**, à la fois d'ordre comportemental et physiologique, étroitement lié au bien-être animal.

Le projet FP7 COPEWELL (http://www.imr.no/copewell/the_copewell_project/en) 'A new integrative framework for the study of fish welfare based on the concepts of allostasis, appraisal and coping styles' a démarré en juillet 2011 avec comme objectif d'analyser plus en détail les bases mécanistiques (comportementales, neurophysiologiques, physiologiques, et génomiques) des réponses adaptatives des poissons. Ce projet est focalisé sur trois des plus importantes espèces de l'aquaculture européenne : le saumon atlantique (*Salmo salar*), le bar européen (*Dicentrarchus labrax*) et la daurade royale (*Sparus aurata*).

Le consortium du projet **COPEWELL** réuni 17 partenaires venant de 10 pays européens (Danemark, France, Grèce, Islande, Norvège, Portugal, Espagne, Suède, Pays-Bas et Royaume-Uni) et est divisé en six « Work Packages » dont 4 concernent les activités de recherche et sont présentés ci-après. Mon travail de thèse s'inscrit principalement dans le work package 1 (WP1). Les termes employés et leurs définitions seront abordés plus en détails dans la partie introduction générale.

WP1 : Coping styles

Les objectifs du WP1 sont (1) de démontrer et de quantifier la présence et la cohérence dans le temps de la variation individuelle dans les « coping styles » chez le saumon atlantique, le bar européen et la daurade royale, aux moyens d'analyses comportementales et neuroendocriniennes ; (2) d'établir des méthodes non invasives pour une identification fiable des « coping styles » divergents chez les poissons d'élevage ; (3) d'identifier les mécanismes à la base du bien-être et d'identifier des corrélations entre ces derniers et des traits pertinents pour les poissons d'élevage, par l'étude de la régulation génétique des « coping styles » au niveau du transcriptome ; et (4) d'établir un lien entre capacité d'adaptation et fonctionnement du cerveau, en cherchant des différences dans la structure télencéphalique et les fonctions associées entre les poissons aux « coping styles » divergents, avec un accent particulier sur l'expression des gènes affectant l'apprentissage, la mémoire et la plasticité neuronale.

WP2 : Appraisal

Les objectifs du WP2 sont (1) de tester les évaluations cognitives chez les poissons afin de comprendre comment ils évaluent et ressentent l'attraction/répulsion pour des stimuli avec des valences positives et négatives sur la base des profils comportementaux caractérisés par les méthodes développées dans le WP1, (2) de fournir des outils et des méthodes pour mesurer la manière dont les poissons évaluent les situations, (3) et d'étudier comment cette évaluation des situations diffère entre les espèces et les individus de « coping styles » divergents puis (4) d'explorer la façon dont la prévisibilité et la contrôlabilité peuvent moduler l'évaluation et les stratégies d'adaptation.

WP3 : Allostasie

Les objectifs du WP3 sont (1) de démontrer le principe d'allostasie comme processus de régulation fondamentale pour expliquer les variations de la réponse au stress chez les 3 espèces étudiées, (2) pour tester la façon dont l'exposition chronique à différents niveaux de charges allostatiques, allant de l'hypo-stimulation au stress aigu, active les diverses composantes de l'axe du stress afin de voir comment cela affecte la capacité à faire face à un challenge supplémentaire de stress aigu et (3) d'évaluer le concept d'allostasie et d'élargir les études de la charge allostatique et de la surcharge en utilisant le séquençage de nouvelle génération, de différents types ARN (micro-ARN et ARNm) et de cibles d'ADN pour la trans-régulation (étude des facteurs de transcription).

WP4 : Ontogénie

Les objectifs du WP4 sont (1) d'étudier l'ontogenèse de la fonction neuronale et neuroendocrine des réactions de stress chez les trois espèces étudiées, (2) d'étudier l'impact de l'expérience de stress dans les premiers stades de la vie sur l'ontogénèse et les

performances de conditionnement opérant, sur les mécanismes allostatiques et les capacités d'adaptation plus tard dans la vie (cycle de production) et (3) de déterminer si et comment l'environnement et les pratiques d'élevage au cours des étapes précoces de la vie, ont un impact sur la plasticité des fonctions du cerveau associées à la performance et aux capacités d'adaptation des poissons à des stades ultérieurs de développement.

Financements

Les travaux de recherche réalisés dans le cadre de cette thèse ont été financés par la Commission Européenne sous le 7^{ème} programme cadre FP7-KBBE-2010-4 Contrat numéro: 265957 COPEWELL, et le salaire correspondant au doctorat a été supporté par le Conseil général de la Charente-Maritime. La gestion administrative du salaire a été réalisée par le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) dans le cadre de l'UMR INTREPID (CIRAD-Ifremer).

Cette thèse s'est déroulée entre la station expérimentale d'aquaculture de Palavas-les-Flots (<http://wwz.ifremer.fr/mediterranee/implantations/Palavas>) et la Plateforme d'Ecophysiologie des Poissons (PEP, <http://wwz.ifremer.fr/pep>) du Laboratoire Ressources Halieutiques de l'Ifremer à La Rochelle (LRHLR), et en collaboration avec les différents partenaires du projet.



Introduction Générale



1. VARIABILITE INTER-SPECIFIQUE ET INTRA-SPECIFIQUE

La première chose que l'on peut voir lorsque l'on regarde autour de nous, c'est la diversité de ce qui nous entoure. Ceci explique pourquoi les différences entre des populations de différentes espèces sont étudiées depuis longtemps. Ces différences inter populationnelles seraient expliquées selon la théorie de l'évolution et de la sélection naturelle, décrite par Charles Darwin, naturaliste anglais du XIX^e siècle dans son livre devenu célèbre *De l'origine des espèces*, 1859. Voici comment Darwin expose sa théorie dans l'introduction de son ouvrage *De l'origine des espèces*, 1859 : « Comme il naît beaucoup plus d'individus de chaque espèce qu'il n'en peut survivre, et que, par conséquent, il se produit souvent une lutte pour la vie, il s'ensuit que tout être, s'il varie, même légèrement, d'une manière qui lui est profitable, dans les conditions complexes et quelquefois variables de la vie, aura une meilleure chance pour survivre et ainsi se retrouvera choisi d'une façon naturelle. En raison du principe dominant de l'hérédité, toute variété ainsi choisie aura tendance à se multiplier sous sa forme nouvelle et modifiée ».

(Source : <http://darwin-online.org.uk/contents.html#origin> ; Darwin, 1859).

La variation phénotypique existe donc entre les espèces, entre les populations locales d'une même espèce ainsi qu'à l'intérieur d'une seule et même population locale (Wilson, 1998).

Il existe naturellement des différences entre les individus d'une même espèce. Parmi les plus évidentes on trouve la masse, la taille ou le sexe par exemple. Ces différences interindividuelles se retrouvent à tous les niveaux d'organisation, que ce soit par exemple au niveau morphologique, physiologique, comportemental ou génétique. Longtemps considérée comme un bruit statistique, c'est-à-dire comme des valeurs qui oscillent aléatoirement autour de la moyenne sans réelles raisons apparentes, cette variabilité interindividuelle commence depuis quelques années à être reconnue comme matériel évolutif indispensable. Historiquement, ces différences interindividuelles étaient imputées aux dispositifs expérimentaux (Ruxton and Colegrave, 2006). Cependant avec l'évolution des techniques et des moyens de mesures de plus en plus précis, cette variabilité ne s'en est pas trouvée diminuée. Même dans des conditions de laboratoire standardisées, des différences entre les individus sont observées.

Ces variations sont ainsi observées dans les performances de croissance. En effet, la plupart des espèces montrent d'importantes variations interindividuelles dans leurs taux de croissance, souvent en réponse à des variations dans les ressources (Hentschel, 1999). Cependant, même lorsque les animaux sont nourris dans des conditions standardisées, des variations dans les trajectoires individuelles de croissance persistent. Les performances reproductrices apparaissent aussi comme étant variables au sein d'une même espèce, tout

comme la physiologie. Par exemple, Careau et collaborateurs (2008), soulèvent le fait « qu'une différence si petite soit-elle, de 10 % (souvent moins) entre les taux métaboliques basaux moyens de deux populations, groupes ou traitements soit très largement étudiée, alors qu'une variation aussi large que 200 % dans les taux métaboliques basaux moyens entre les individus d'une même espèce ne mérite pas autant d'attention » (revue dans Careau, 2008, Figure 1). Williams, (2008) a récemment soulevé le même problème face à la variation inter-individuelle dans les taux d'hormones. Enfin, Whitehead and Crawford, (2006) observent la même chose concernant l'expression des gènes, où la variation des transcriptomes peut être supérieure entre individus d'une même population qu'entre différentes populations.

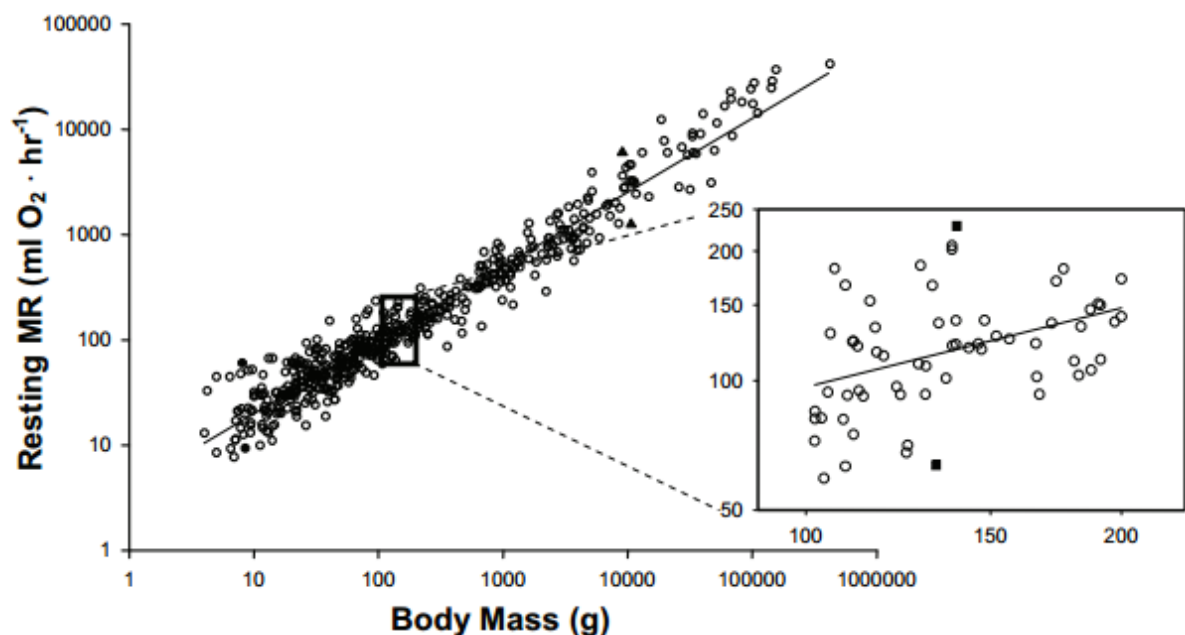


Figure 1 : Variations interspécifiques dans les taux métaboliques basaux (TMB) de 530 espèces de mammifères (Careaux et al., 2008) à travers des masses d'ordre de grandeur de magnitude 5 (données de Lovegrove, 2000, dans Careaux et al 2008). Bien que la masse corporelle explique 95 % de la variation dans les taux métaboliques de tous ces mammifères, à l'intérieur des gammes de masses, cela explique une faible proportion de la variation de ces taux métaboliques. Par exemple, de 100 à 200g (chez les insectes), la masse explique seulement 17 % de la variation des taux métaboliques, qui varient d'un facteur 3.6 entre des Tenrecs zébrés, *Hemicentetes semispinosus* (64mlO₂.h⁻¹) et des Rats du coton, *Sigmodon hispidus* de 139g (230mlO₂.h⁻¹). De larges différences dans les taux métaboliques basaux de mammifères de tailles similaires se retrouvent dans toutes les gammes de masses, incluant une différence d'un facteur 6.8 entre le TMB de musaraignes, *Sorex araneus* de 8.1 g (60.2mlO₂.h⁻¹) et des Chauves-souris, *Hiposideros galeritus* de 8.5g (9.4mlO₂.h⁻¹) (Careau et al., 2008).

Mis en présence d'un nouvel objet, certains individus vont immédiatement s'intéresser à cet objet alors que d'autres vont avoir tendance à l'éviter et ne pas s'en



approcher. Ce comportement a été décrit dans différents taxons, allant des oiseaux comme par exemple la mésange charbonnière (*Pajus major*) (Verbeek et al., 1994), aux mammifères comme le porc (*Sus scrofa*) (Wemelsfelder et al., 2000), mais également chez les téléostéens comme la truite fario (*Salmo tutta*) (Adriaenssens and Johnsson, 2011a) et chez bien d'autres espèces encore. Les exemples sont nombreux, mais des différences sont observées dans les niveaux d'agressivité, les capacités à résoudre des problèmes ou les capacités exploratoires pour n'en citer que quelques-unes. Pour illustrer ce propos, la figure ci-après représente les motifs exploratoires de juvéniles de bar placés dans un labyrinthe en Z (Figure 2). Ce test permet de mesurer les capacités exploratoires des individus. Bien qu'en apparence identique, lorsqu'on étudie leurs comportements, on observe que certains individus ne quittent pas la zone refuge, tandis que d'autres vont explorer tout le labyrinthe.

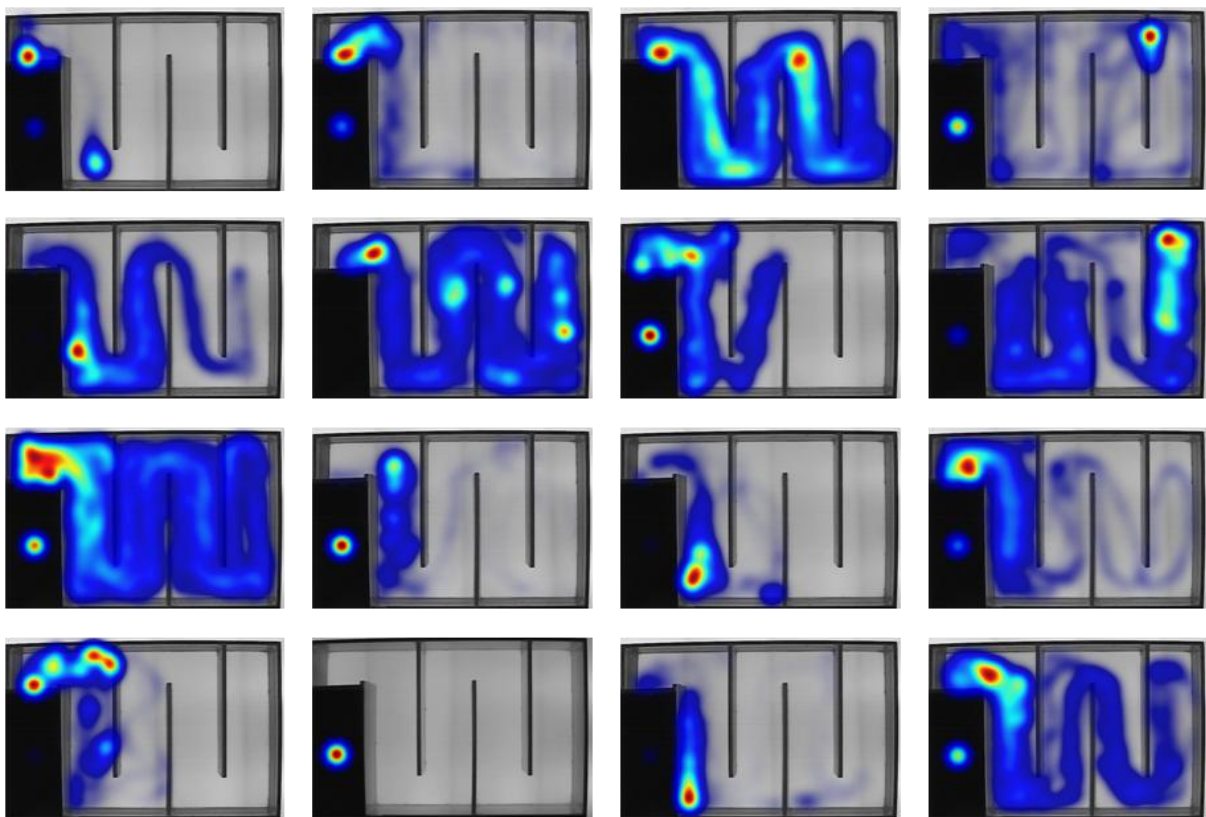


Figure 2 : Vues du dessus des motifs exploratoires de jeunes bars (*Dicentrarchus labrax*) placés pendant 5 minutes dans un labyrinthe en Z équipé d'une zone refuge (en noir). Les couleurs représentent les proportions de temps passé dans les différentes zones du labyrinthe. L'échelle va du bleu foncé (peu de temps) au rouge foncé (beaucoup de temps), illustrant l'importante variabilité interindividuelle de ce comportement.

Depuis quelques années, l'étude de la variabilité individuelle reçoit un intérêt considérable de la part de la communauté scientifique, et les chercheurs reconnaissent que les processus générant des différences entre les populations sont les mêmes que ceux qui agissent au niveau individuel. De ce fait, une question émerge : La variation est-elle le substrat de la sélection ou bien est-elle le résultat adaptatif de la sélection ?

2. « TRAITS D'HUMOUR »

Tous ceux qui ont eu à travailler avec des animaux, ou qui ont eu des animaux de compagnie l'ont observé, certains animaux peuvent être plus peureux, plus actifs, plus affectifs ou agressifs que d'autres (Figure 3).

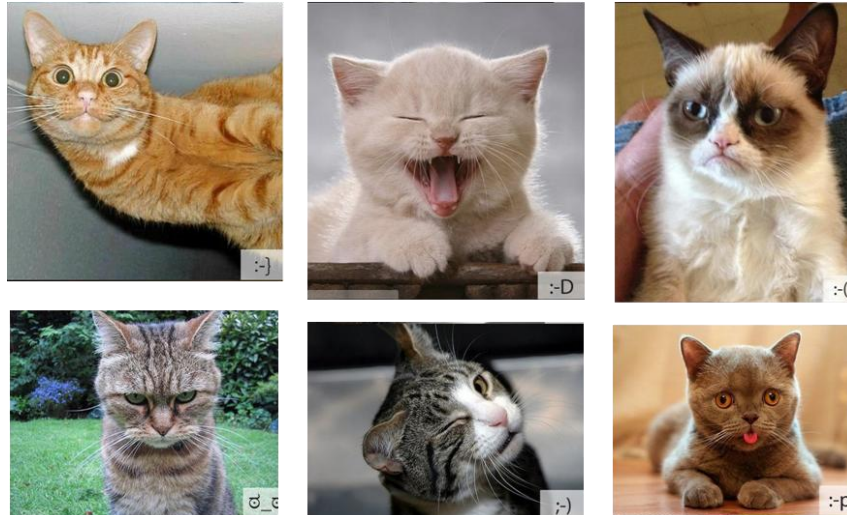


Figure 3 : Variations dans le comportement du chat domestique (*Felis silvestris catus*). Source : <http://9gag.com/gag/5582588>.

Les expressions faciales facilitent ainsi l'attribution de personnalités aux animaux, l'humain y reconnaissant quelques traits communs. Cependant, cela devient plus compliqué chez les téléostéens (Figure 4), et c'est probablement une des explications à l'origine d'une croyance populaire ne leur attribuant pas d'intelligence, de mémoire (de poisson rouge !) voire même ne leur reconnaissant pas la sensation de douleur. Dans la suite de cette thèse, nous considérons évidemment que les téléostéens sont intelligents, ont de fortes capacités de mémoire (Brown, 2014) et sont des êtres sensibles (Braithwaite, 2010).

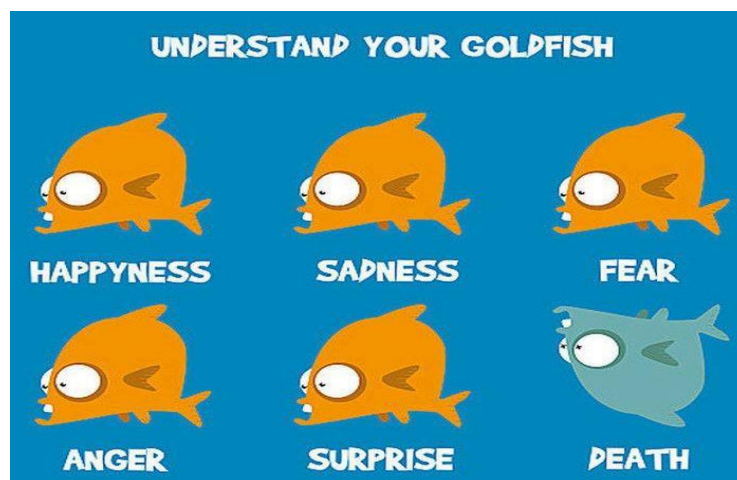


Figure 4 : Schéma illustrant la difficulté de distinguer l'individualité chez les téléostéens. Source: <http://sillylittlegiggles.com/understand-your-goldfish/>.



3. TRAITS DE PERSONNALITE

3.1. De l'Homme à l'Animal

Dès l'antiquité, des considérations sur les différences individuelles concernant les Hommes sont perçues chez les philosophes (Platon, Aristote) et les médecins (Hippocrate). Ce n'est cependant que vers la fin du XIX^e siècle que la variabilité interindividuelle a été l'objet d'une approche scientifique.

La personnalité a été définie par de nombreux auteurs et le nombre de définitions selon Allport était déjà à hauteur d'une cinquantaine en 1937. Nous retiendrons que, d'un point de vue général, la personnalité est ce qui caractérise un individu. Elle pourrait aussi bien se définir comme une recherche de variables permettant de décrire des différences entre les individus. Le premier sens du mot personnalité provient du mot latin *persona* qui signifie masque de théâtre. Dans certains cas, il exprime un élément distinctif. Parmi les nombreuses définitions du mot personnalité, nous retiendrons celle de Vexliard,(1957):

« La personnalité est une structure dynamique intégrative et intégrante, assurant une unité relative et la continuité dans le temps qui rendent compte des particularités propres à un individu, de sa manière de sentir, de penser, d'agir et de réagir dans des situations concrètes ».

Selon le Larousse, la personnalité est « l'ensemble des traits physiques et moraux par lesquels une personne est différente des autres ». Chez les Humains, l'existence de la personnalité est largement établie. Elle est aujourd'hui basée sur la théorie du modèle des « 5 grands facteurs », Five Factor Model en anglais (John, 1990), (Tableau 1). Ces 5 grands facteurs sont chez l'homme : l'extraversion, le névrosisme ou neuroticisme, l'agréabilité, la conscience et l'ouverture.

Tableau 1 : Tableau représentant le modèle de la personnalité chez l'homme, selon le modèle à 5 grands facteurs (John, 1990).

	Démoniation des dimensions du Modele à 5 Facteurs	Exemples de facettes
N	Neuroticisme vs Stabilité émotionnelle	Anxiété, dépression, vulnérabilité au stress
A	Agréabilité vs Antagonisme	Compassion, coopération, manque d'agressivité
E	Extraversion vs Introversion	Sociabilité, activité, émotions positives
O	Ouverture à l'expérience vs Fermeture	Imagination, créativité, curiosité
C	Conscienciosité vs Impulsivité	Autodiscipline, respect des obligations, organisation

Cependant, une question se pose : peut-on utiliser cette approche chez les animaux ? Dans *L'origine des espèces* (1859), Darwin évoque la possibilité d'une continuité entre les humains et d'autres animaux. Dans *L'expression des émotions chez l'homme et les animaux*, Darwin, (1872) soutient l'existence d'une continuité dans l'expression des émotions chez

certaines animaux et chez les êtres humains, c'est à dire que l'on retrouve chez les uns et les autres les mêmes émotions de base. Cette similarité a été prouvée dans l'expression des émotions de base telles que la colère, la tristesse, la peur et la joie, chez les primates non humains et humains (Ekman, 1993; 1998).

Gosling and John, (1999) ont tenté de savoir s'il existe des dimensions de personnalité communes à une grande diversité d'espèces en posant la question suivante : quelles sont les grandes dimensions de la personnalité animale ? A partir d'une étude sur douze espèces animales, ils ont montré que trois des cinq grands facteurs se retrouvaient de manière générale chez toutes les espèces (N, A, E, Tableau 1). Comme le décrit Konrad Lorenz dans son ouvrage *L'analogie comme source de la connaissance*, (Lorenz, 1974), la description de « la personnalité chez d'autres espèces ne constitue pas de simples projections anthropomorphiques mais reflète bien les caractéristiques réelles des animaux évalués », ce sont des concepts fonctionnellement déterminés. Bien que les données soient rares, certaines confirment l'existence d'une continuité dans la structure des traits de personnalité chez les humains et chez d'autres espèces (Pervin and John, 2005).

3.2. Ontologie et terminologie

L'application du terme « personnalité » aux animaux a été entravée par une peur généralisée de l'anthropomorphisme (Vazire S. and Gosling S. D., 2004). Cette peur infondée est à l'origine de l'utilisation d'une multitude de termes tels que *syndromes comportementaux* (Sih et al., 2004a), *profils comportementaux* (Budaev, 1999), *tempéraments* (Réale et al., 2007), *normes de réactions comportementales* (Dingemanse et al., 2009), *rythme de vie* (*Pace of Life Syndrome* en anglais, (Réale et al., 2010b)) ou *styles de faire face/style d'adaptation* (*coping styles* en anglais, (Koolhaas et al., 1999)) afin d'éviter d'utiliser le terme « personnalité ». Par exemple, *Personnalité* et *Tempérament* sont deux termes bien distincts dans les théories appliquées à l'Homme, mais utilisés sans distinction chez les animaux. C'est aussi le cas pour de nombreux autres termes dans la littérature animale (*Plasticité comportementale*, *Expression phénotypique*, *Différences interindividuelles*, etc...).

Même s'il est vrai qu'il existe certaines différences entre ces termes que nous allons définir, tous désignent des variations comportementales et/ou physiologiques interindividuelles. Ceci a néanmoins résulté en une fragmentation rapide de la littérature à propos de ce sujet, rendant nécessaire l'établissement d'une base de travail réunissant tous ces concepts. Nous allons faire un bref inventaire des termes couramment utilisés dans la littérature de la personnalité animale.



3.2.1. *Trait*

Dans les études en psychologie humaine, un *trait de personnalité* est « une dimension selon laquelle les différences individuelles exprimées dans un comportement spécifique ou dans un groupe de comportements sont cohérentes dans le temps et peuvent être quantitativement décrites » (Itoh, 2002). Des exemples de traits de personnalité chez les humains sont : curieux, courageux, agressifs, etc. Lorsque l'on parle de quelqu'un comme étant agressif ou timide par exemple, cela ne veut pas dire qu'il sera nécessairement toujours agressif, mais plutôt que son comportement face à certaines situations est généralement de ce type. Ceci est important car cette variation individuelle est distincte des changements temporels, contextuels et environnementaux, mais explique plutôt le caractère sous-jacent caractéristique de l'individu en question (Toms et al., 2010). Sih et al., (2004) utilisent le terme *trait* pour définir un comportement dans un seul et même contexte, ce qui soustrait la « cohérence dans le temps » de la définition. Réale et al., (2007) font la distinction entre traits comportementaux et traits appartenant à d'autres catégories comme les traits physiologiques ou morphologiques. Dans ce sens, les traits en questions se réfèrent plutôt au phénotype, un autre terme couramment utilisé de manière interchangeable avec le terme *trait* (Toms et al., 2010).

3.2.2. *Tempérament*

Selon Réale et al., (2007), le *Tempérament* correspond aux « différences comportementales interindividuelles, cohérentes dans le temps et à travers les situations ». Dingemanse et al., (2010) donnent la même définition pour le terme *Personnalité*. Le tempérament est un ensemble de traits comportementaux, définis comme étant, selon Réale et al., (2007) « une caractéristique d'un organisme partagée par tous ou certains individus d'une espèce et qui peut varier selon ces individus ».

Cependant, encore une fois les termes *Contexte* et *Situation* sont utilisés de manière interchangeable dans la littérature, alors que Sih et al., (2004) font bien une distinction : un *contexte* correspond à une catégorie comportementale fonctionnelle (se nourrir, s'accoupler, apporter des soins parentaux, se comporter face à un prédateur) alors qu'une *situation* est un ensemble de conditions à un moment donné. Par exemple, différentes situations peuvent impliquer différents niveaux le long d'un gradient environnemental (différents niveaux de prédation, de risque, de possibilité de s'alimenter, etc.) ou bien différents ensembles de conditions à travers le temps (par exemple, saison de reproduction *versus* d'autres moments, ou encore juvénile *versus* adultes). Ceci met l'accent sur le fait qu'il peut y avoir différents contextes au sein d'une même situation, ou bien encore un même contexte dans différentes situations et enfin, différents contextes dans différentes situations. Ceci est très important lorsque l'on s'intéresse aux corrélations entre comportements, contextes et situations.

Comme le font remarquer Budaev and Zworykin, (2002), le comportement d'un individu « dépend à la fois de son état interne à un moment particulier ainsi qu'au stimulus environnemental immédiat » et il est compliqué d'« extraire des caractéristiques stables d'un individu changeant constamment de comportement en réponse à son environnement ». Il en découle que les différences comportementales observées ne sont pas nécessairement équivalentes à des différences de personnalité.

Différents traits de personnalité, ou types comportementaux sont communément reconnus chez les animaux. Ces traits sont déterminés par des réponses comportementales fonctionnelles le long d'un continuum au sein duquel la population se répartie. Réale et al., (2007) ont suggéré que la personnalité animale était globalement définie selon 5 axes ou continuums majeurs.

3.3. Les axes majeurs de la personnalité animale

Axe 1 : Audace

Un des axes le plus étudié est le continuum *Timide-Audacieux* (*shyness-boldness* en anglais) car présent dans de très nombreux taxons. Wilson et al., (1994) ont émis l'hypothèse que cet axe est fondamental et à la base de la variation comportementale chez de nombreuses espèces. En effet, des variations interindividuelles le long de cet axe ont été décrites chez de nombreux vertébrés¹ comme l'écureuil roux d'Amérique du Nord *Tamiasciurus hudsonicus* (Boon et al., 2007), les chiens domestiques *Canis familiaris* (Careau et al., 2010), des rongeurs comme la souris *Mus musculus domesticus* (Benus et al., 1991), des oiseaux comme la mésange charbonnière *Parus major* (Verbeek et al., 1994), des squamates comme le lézard vivipare *Lacerta vivipara* (Cote and Clobert, 2007), des téléostéens comme la truite arc en ciel *Oncorhynchus mykiss* (Øverli et al., 2007) ou le bar européen (Ferrari et al., 2014b Chap - 5) mais aussi chez des invertébrés¹ mollusques comme le poulpe *Octopus rubescens* (Mather and Anderson, 1993), des cnidaires comme l'actinie rouge *Actinia equina* (Briffa and Greenaway, 2011), des arthropodes comme l'araignée *Stegodyphus sarasinorum* (Grinsted et al., 2013), ou encore chez les abeilles mellifères *Apis mellifera* (Wray and Seeley, 2011).

Ce trait de personnalité représente la réaction individuelle face à des situations pouvant être jugées comme dangereuses, comme par exemple le fait de se retrouver face à un prédateur potentiel. On comprend de suite l'importance de ce type de comportement ainsi que sa valeur adaptative, car la quasi-totalité des animaux ont des prédateurs, et leurs comportements déterminent leur survie et leur fitness². Il est d'ailleurs à noter que l'axe

¹ Listes non exhaustives

² « Capacité d'un individu à produire des descendants matures, relativement aux autres individus de la même population et au même moment » Danchin, E., Giraldeau, L.-A., Cézilly, F., 2005. Ecologie Comportementale. Editions Dunod, Paris, 637 pp.



Timide/Audacieux est soumis à la sélection, et est en partie héritable. En effet, des QTL de l'audace ont été observés chez différentes espèces. Nous reviendrons cependant plus en détail sur ce point plus loin dans ce manuscrit (Introduction générale - section 10. Héritabilité du coping style).

Différents types de tests sont utilisés pour évaluer l'audace des individus. Globalement, la latence pour passer d'une zone « sûre » (comme un abris sombre) vers une zone « à risque » inconnue éclairée et ouverte (sans abri) est un bon indicateur de ce trait (Budaev et al., 1999a, b; Fraser et al., 2001; Brown et al., 2007; Biro et al., 2010; Eriksson et al., 2010). Cependant, les tests en zone ouverte dits *Open field tests* (OFT), ainsi que les tests d'approche d'un nouvel objet sont aussi couramment utilisés pour évaluer ce trait de personnalité (Toms et al. 2010, tables 1, 2 & 3 et table 7.1 dans Budaev and Brown, (2011)).

Axe 2 : Exploration – évitement, néophobie

Cet axe classe les individus selon leurs réactions à des situations nouvelles. Ceci inclut le comportement face à un nouvel objet, à un nouveau type de nourriture ou un nouvel habitat. Cet axe est lié à la néophobie, et peut être considéré comme faisant partie de l'exploration mais aussi de l'audace, expliquant pourquoi ce sont globalement les mêmes tests que ceux utilisés pour évaluer l'audace qui permettent d'évaluer l'exploration (test en zone ouverte, nouvel objet, nouvel environnement et labyrinthes).

Axe 3 : Activité

L'activité, bien que peu évaluée en tant que telle dans les tests de personnalité, est de plus en plus considérée comme un axe important de la personnalité (Réale et al., 2007; Biro and Stamps, 2008; Careau et al., 2008; Biro and Stamps, 2010; Careau and Garland, 2012). Elle se caractérise par la quantité de déplacement d'un individu sur une période donnée (Quinn and Cresswell, 2005) et représente donc le niveau général d'activité (Réale et al., 2007). Un exemple de test pour évaluer l'activité consiste à évaluer le nombre de transitions entre deux ou plusieurs zones, ou bien la distance parcourue dans une zone ouverte (OFT). Ce trait peut facilement interférer avec la mesure de l'exploration ou de l'audace. Par ailleurs, les niveaux individuels d'activité sont généralement corrélés avec les taux métaboliques des individus, comme cela a été démontré chez le bar européen (Killen et al., 2011b) ou d'autres espèces (Nespolo and Franco, 2007; Careau et al., 2008; Martins et al., 2011a; Herrera et al., 2014). Cependant, le métabolisme n'étant pas considéré comme un trait de personnalité, mais plutôt comme un caractère phénotypique, nous y reviendrons plus précisément dans la partie « Introduction générale - section 5.2. Le métabolisme ». Les niveaux d'activité individuels sont très importants pour la fitness, car ils sont en interaction avec les besoins individuels en nourriture et la prise de risque pour pouvoir se nourrir.

Axe 4 : Agressivité

L'agressivité des individus est représentée par la densité d'interactions agonistiques envers des conspécifiques. Comme pour l'audace, les individus sont répartis selon l'axe de l'agressivité, avec à un extrême les individus peu ou pas agressifs et à l'autre les individus très ou toujours agressifs. Ce trait est généralement évalué en quantifiant la latence avant la première attaque ou poursuite (*i.e.* le temps en secondes avant la première attaque, cette dernière étant définie comme un changement soudain de direction et de vitesse lors de l'approche de l'opposant), le nombre d'attaques/poursuites, la latence avant un combat et le nombre de combats (Benus et al., 1992; Verbeek et al., 1996; Bell and Stamps, 2004; Carere et al., 2005b; Reyes-Tomassini, 2009). Le dispositif généralement utilisé pour évaluer l'agressivité d'un individu consiste à le laisser prendre ses repères et/ou se nourrir dans une zone pendant un certain temps (un enclos, une cage ou un bassin selon le modèle étudié), puis d'y faire entrer un intrus afin d'observer les interactions agonistiques. Encore une fois, ce trait est aussi soumis à la sélection et est en partie héritable, des lignées génétiques divergentes concernant l'agressivité chez la souris domestique *Mus musculus domesticus* ayant été développées depuis plusieurs générations au laboratoire de recherche de Groningen au Pays Bas (Sluyter et al., 1995).

Axe 5 : Sociabilité

La sociabilité d'un individu représente sa propension à rechercher ou éviter la présence de conspécifiques (Cote and Clobert, 2007; Réale et al., 2007). Un individu plus sociable aura plutôt tendance à chercher la présence d'un congénère, contrairement à un individu asocial qui va plutôt chercher l'évitement. Un exemple de test utilisé pour évaluer le caractère social ou asocial d'un individu consiste à le placer dans un dispositif comprenant 3 chambres, d'un côté se trouve un compartiment vide, et de l'autre un compartiment identique est installé dans lequel est placé un congénère (familier ou non). L'individu test est placé dans la chambre centrale et le temps passé dans chaque zone ainsi que le nombre d'interactions entre les individus permet d'évaluer le niveau de sociabilité de l'individu en question (Yang et al., 2001; Kaidanovich-Beilin et al., 2011). D'autres dispositifs comme des labyrinthes en T, en Y ou même rectangulaires voire des systèmes de tapis roulant (Gibbons et al., 2010) donnant accès à un congénère pour les animaux marcheurs permettent d'étudier ce type de comportement.

Remarque : Les différents tests utilisés

Si l'on prête attention aux différents types de tests utilisés pour évaluer tels ou tels traits comportementaux, dits de personnalité, on y remarque des redondances. En ce sens, on observe que le test en zone ouverte permet selon les auteurs d'évaluer l'activité, l'audace ou l'exploration. Il en est de même pour le test du nouvel objet qui est utilisé pour évaluer l'exploration, la néophobie et l'audace. Ainsi comme l'a soulevé Gosling, (2001), le même



trait de personnalité peut être évalué par différentes méthodes, et à l'inverse, la même méthode peut être utilisée pour évaluer différents traits. Dès lors, on comprend qu'il peut y avoir des confusions dans le type de comportement réellement testé. Certains auteurs ont proposé par exemple de mesurer l'activité des individus dans des environnements non risqués et non nouveaux, ceci afin de ne pas interférer avec le caractère exploratoire (Barnett and Cowan, 1976; Renner, 1990) (car l'environnement est alors connu) ni avec l'audace (car l'environnement ne représente pas un risque). Réale et al., (2007) proposent de mesurer le même trait (par exemple l'audace) par différents tests (*i.e.* dans différents contextes) puis d'évaluer la force des corrélations entre ces mesures. De cette manière, il devient possible de voir la dépendance d'un trait de personnalité au contexte dans lequel il est évalué.

3.4. Syndromes comportementaux

Il apparaît que différents traits comportementaux peuvent être corrélés entre eux (Sih et al., 2003; Sih et al., 2004a; Sih et al., 2004b; Bell, 2007; Sih and Bell, 2008; Castanheira et al., 2013a). Ces corrélations se réfèrent aux différences interindividuelles à travers le temps et/ou les situations et sont donc une caractéristique de la population étudiée. A l'inverse, le type comportemental se réfère à la configuration particulière qu'un individu exprimera dans ces mêmes conditions et est donc caractéristique d'un individu (Figure 5) (Bell, 2007). En écologie évolutive, une suite de caractères corrélés est communément appelée syndrome (e.g. syndrome des traits d'histoire de vie, syndrome de dispersion). Sih et al., (2004b) proposent donc le terme de syndrome comportemental lorsque qu'une suite de comportements sont corrélés entre eux.

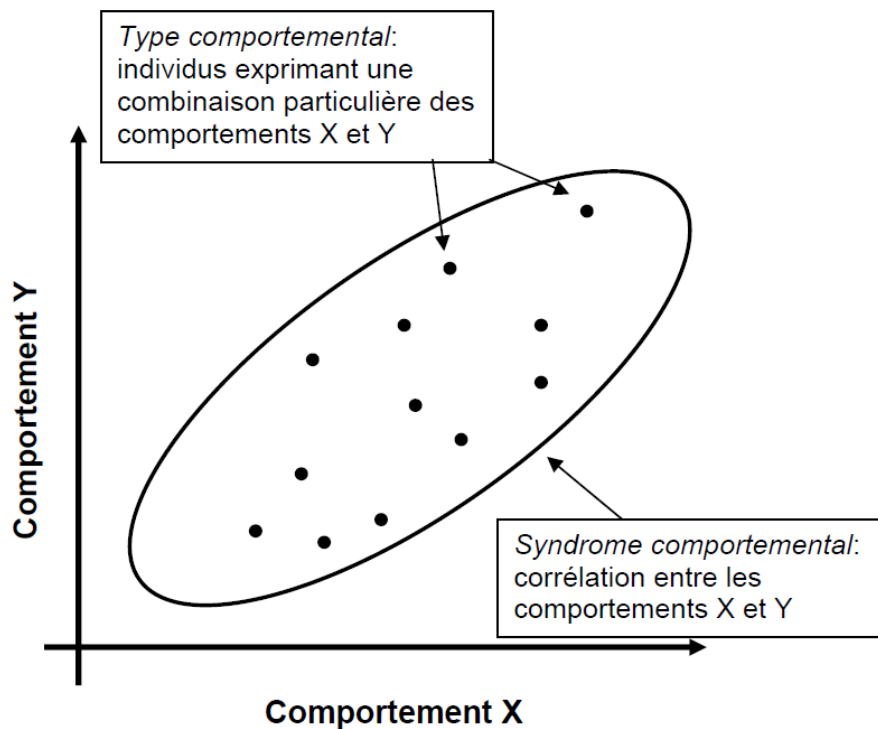


Figure 5 : Graphique illustrant les notions de syndrome comportemental et de type comportemental. Chaque individu de la population est représenté par un point (Bell, 2007).

Un des premiers syndromes comportementaux décrit était le syndrome d'agression par Huntingford, (1976) chez l'épinoche *Gasterosteus aculeatus*. Son étude a mis en évidence que bien que les individus modifient leurs niveaux d'agressivité selon le contexte (se nourrir, se reproduire ou fuir des prédateurs), certains individus étaient constamment plus agressifs que d'autres dans les différents contextes. Depuis, de nombreux syndromes comportementaux ont été décrits pour l'activité (Sih et al., 2003), l'audace (Wilson et al., 1994; Fraser et al., 2001), la peur (Boissy, 1995) ou encore la réactivité (Koolhaas et al., 1997). Un des plus documentés à ce jour est le syndrome liant positivement l'agressivité, l'activité, et l'audace (et quelques fois l'exploration superficielle) (Verbeek et al., 1996; Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004a; Sih and Bell, 2008; Réale et al., 2010b; Geffroy et al., 2014a; Geffroy et al., 2014b).



4. INTEGRATION DU COMPORTEMENT ET DE LA PHYSIOLOGIE :

4.1. Syndrome du rythme de vie (*Pace of life syndrome*)

Un autre terme, le « syndrome du rythme de vie » ou *Pace Of Life Syndrome* en anglais émerge au début du XXI siècle, intégrant à la fois les syndromes comportementaux et les traits phénotypiques liés aux traits d'histoire de vie. L'idée des « rythmes de vie » trouve ses racines dans le concept des stratégies r et K (MacArthur and Wilson, 1967; Pianka, 1970; Reznick et al., 1996; Réale et al., 2010b). Le modèle évolutif r/K explique que l'évolution des stratégies de reproduction des espèces est étroitement liée aux fluctuations de l'environnement. Globalement, la stratégie r est basée sur une durée de vie relativement courte et une reproduction rapide (*i.e.* précoce) produisant un grand nombre de descendants, associée à une forte mortalité de ces derniers. Cette stratégie permettrait une meilleure adaptation aux milieux instables et imprévisibles. A l'opposé, la stratégie K est basée sur une durée de vie relativement longue, une reproduction relativement rare et tardive avec d'avantage de soins parentaux mais associée à une mortalité plus faible. Elle serait mieux adaptée à des environnements plutôt stables et prévisibles. C'est aussi une extension plus récente du concept de continuum des cycles biologiques « lent-rapide » (Réale et al., 2010b) l'élargissant en y ajoutant une dimension physiologique (Figure 6).

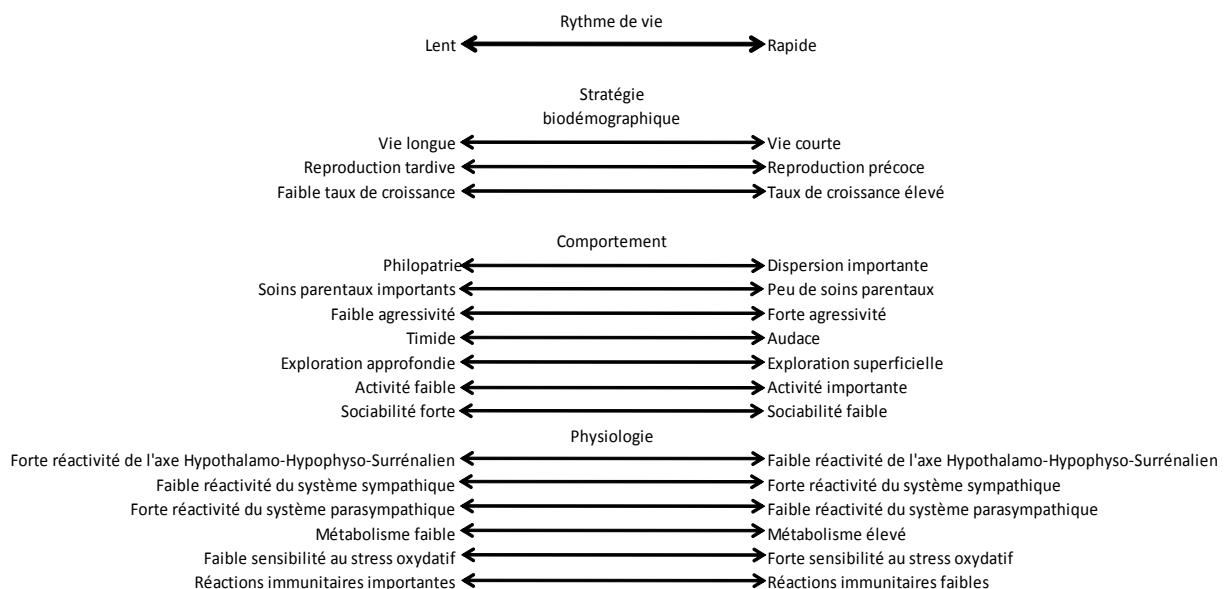


Figure 6 : Schéma de la potentielle intégration des différents traits le long du continuum du rythme de vie (Réale et al., 2010b).

Les différences dans les stratégies de cycles de vie sont principalement attribuées à l'existence de compromis évolutifs (*i.e.* génétiques et physiologiques) entre les traits d'histoire de vie et la structure de la mortalité liée à l'âge, résultat de la prédation, du parasitisme, ou encore du caractère hétérogène de la qualité des ressources dans le temps et dans l'espace (Reznick et al., 2002). Dès lors, on s'attend à ce que des individus qui diffèrent dans leurs comportements, leurs physiologies et leurs caractéristiques biologiques, soient affectés différemment par les fluctuations de la densité et de l'abondance des ressources (Chitty, 1967). Les pressions de sélection corrélationnelles associées aux différentes fitness parmi les différentes combinaisons possibles de phénotypes, peuvent générer et maintenir des corrélations entre les différents traits (génétiques, physiologiques et comportementaux, (Sih et al., 2004b). Par exemple, si le fait d'être agressif permet un meilleur accès et une monopolisation des ressources, ce trait pourrait avoir potentiellement co-évolué avec de forts taux de croissance. A l'inverse, l'agression peut aussi augmenter le risque de mortalité, ceci pouvant résulter en une co-sélection envers une maturité sexuelle et d'importants efforts reproductifs précoces (Wolf et al., 2007; Biro and Stamps, 2008; Réale et al., 2010b).

4.2. Coping style

Le concept de *coping style* est fréquemment utilisé dans la description des différences inter-individuelles. Toutefois, ce terme fait souvent référence aux capacités d'adaptation des individus face à certaines situations, et en particulier face à des situations stressantes, on parle alors de « stress coping styles ». En effet, face à un stress, les animaux ont deux principaux types de réactions (active ou passive ; comportement de type proactif/réactif) et montrent une suite de réponses physiologiques et comportementales corrélées (Koolhaas et al., 1999).

La théorie du coping style tire ses racines des travaux de Henry and Stephens, (1977). Ces derniers ont suggéré que deux types de réponses pouvaient être distingués. Le premier type de réponse est la réponse dite « active », décrite originellement par Cannon, (1915) comme la réponse de « combat ou fuite », (*fight or flight* en anglais). Globalement, des comportements territoriaux et agressifs caractérisent ce type de réponse. Le second type de réaction a été originellement décrit par Engel and Schmale, (1972), comme étant une réponse dite « immobile et cachée » (*freeze and hide* en anglais) ou encore appelée « préservation et retenue » (*conservation-withdrawal* en anglais). Ce type de réponse est caractérisée par de l'immobilité et de faibles niveaux d'agressivité.

Les individus proactifs ont tendance à essayer de fuir activement ou à contrecarrer et prendre le contrôle sur le stimulus stressant (Koolhaas et al., 1999; Koolhaas, 2008). D'un point de vue comportemental, ils sont 1) plus agressifs et dominants (Øverli et al., 2004a,b; Castanheira et al., 2013b) ; 2) montrent une motivation supérieure à s'alimenter après avoir été transférés dans un environnement nouveau (Øverli et al., 2007) ; 3) approchent des



objets nouveaux plus rapidement (Castanheira et al., 2013a) ; 4) prennent plus de risques (*i.e.* sont plus audacieux) et sont plus enclins à explorer lorsqu'ils sont exposés à la nouveauté (Øverli et al., 2006b; MacKenzie et al., 2009) et 5) tendent à développer des routines comportementales, c'est-à-dire que leur comportement est moins flexible (Bolhuis et al., 2004; Ruiz-Gomez et al., 2011). D'un point de vue physiologique, la stratégie proactive est associée à une faible réponse de l'axe Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien (HHS) (ou axe Hypothalamo-Hypophysaire-Inter-rénal (HHI), chez les téléostéens) (de Boer et al., 1990; Øverli et al., 2005; Øverli et al., 2007; Silva et al., 2010) et à l'opposé une réactivité supérieure du système sympathique caractérise les individus réactifs (Øverli et al., 2007). Enfin, les individus proactifs ont typiquement de plus faibles niveaux basaux de glucocorticoïdes (la principale hormone impliquée dans la réponse au stress et le produit ultime de l'activation de l'axe HHS (ou HHI)), ainsi qu'une moindre augmentation de ces niveaux durant des périodes de stress (Tableau 2). Les individus étant différents dans leurs réponses comportementales et physiologiques, ils sont donc susceptibles d'avoir des capacités d'adaptations différentielles selon le type d'environnement.

Tableau 2 : Récapitulatif des divergences comportementales observées chez des individus aux coping styles différents.

Comportement	Coping style	
	Proactif / Audacieux	Réactifs / Timides
Agressivité	+	-
Exploration	+	-
Approche d'un nouvel objet	+	-
Audace	+	-
Flexibilité comportementale	-	+
Sociabilité	-	+
Cout énergétique de la stratégie	+	-
Taux métabolique standard	+	-
Activité	+	-
Neuro-endocrinologie	Réactivité supérieure du système sympathique (Réponse au stress basée sur une augmentation des catécholamines) (adrénaline)	Réactivité supérieure du système parasympathique (Réponse basée sur une augmentation des glucocorticoïdes) (cortisol)

La théorie des coping styles est souvent associée à une distribution bimodale, avec deux catégories bien distinctes. Cependant, la plupart des études réalisées et ayant abouties à cette théorie l'ont été à partir de lignées sélectionnées depuis plusieurs générations. C'est pourquoi il peut y avoir des confusions dans la littérature, car plusieurs études sur le coping styles chez d'autres espèces sont réalisées sur des lignées non sélectionnées, ne résultant

pas forcément en une distribution bimodale des individus (Koolhaas et al., 1999) mais bien en un continuum dont ces catégories représentent les extrêmes et la majorité de la population se situe à un niveau intermédiaire.

Comprendre les origines et les mécanismes sous-jacents des capacités des individus à faire face à différentes situations aiderait à mieux comprendre les bases de l'adaptation des individus à leur environnement.

4.3. La stratégie du faucon et de la colombe « Hawk-Dove Strategy »

Le concept de *Hawk - Dove strategy*, littéralement le faucon et la colombe, correspond au concept de *coping style* et trouve son origine dans la théorie des jeux. Les faucons sont les individus proactifs et les colombes sont les individus réactifs. Cette terminologie, bien que peu utilisée dans les études de la personnalité, se rencontre toutefois dans certaines études. Elle constitue un énième et dernier exemple du nombre (trop) important de termes utilisés pour définir des différences interindividuelles se référant à la personnalité.

5. PHYSIOLOGIE ET NEUROPHYSIOLOGIE DU COPING STYLE.

5.1. Stress et régulation du stress

Le concept de stress est soumis à débats depuis sa première utilisation par Selye, (1950), qui l'a originellement emprunté à la physique (état d'un corps soumis à la contrainte de diverses forces) pour l'appliquer au domaine de la biologie. Le terme stress a originellement été défini comme une réponse non spécifique du corps face à n'importe quels stimuli nocifs et a principalement été associé à des événements aux conséquences négatives, alors même que ce processus (*i.e.* stress) est essentiel à l'adaptation des individus à leurs environnements. Ceci est en particulier dû au fait qu'il peut entraîner de possibles conséquences maladaptatives (Korte et al., 2005). Il a ensuite été affiné en séparant les termes *stresseur* et *réponse au stress*. Un stresseur est considéré comme un stimulus qui menace l'homéostasie et la réponse au stress est considérée comme la réaction (physiologique et comportementale) des individus ayant pour but de rétablir l'homéostasie (Chrousos, 2009). Le concept d'homéostasie introduit une nouvelle terminologie qui permet d'éviter les ambiguïtés du mot stress. Il a été introduit par Cannon, (1932) puis développé par McEwen and Stellar, (1993) ; McEwen and Wingfield, (2003) (revue dans Korte et al., 2005). L'homéostasie est la capacité d'un organisme à maintenir ses constantes physiologiques dans un état relativement stable. Le stress est donc une réaction normale de l'organisme lui permettant de maintenir sa stabilité face aux changements des conditions



environnantes. Cependant, le coût de la régulation augmente lorsque les médiateurs de l'allostasie³ (hormones et neurotransmetteurs) ne parviennent plus à rétablir l'équilibre (l'allostasie). Le nom donné à ce coût est la *charge allostatique*. Lorsque cette charge allostatique se prolonge, elle peut provoquer ou accélérer le développement d'un état pathologique et peut conduire dans certains cas à la mort de l'individu (on parle alors de surcharge allostatique).

Selon l'environnement, les individus sont plus ou moins vulnérables face au stress. Ceci implique que certaines conditions environnementales affectent différemment les charges allostatiques selon les individus. Cette balance entre allostasie et charge allostatique a été mise en place au cours de l'évolution par des compromis entre coûts et bénéfices qui arrivent aux différents stades du cycle de vie, et qui sont affectés par les saisons, les statuts sociaux, le sexe ou encore les changements environnementaux (Korte et al., 2005). Cependant, bien que les différences physiologiques en lien avec le comportement animal soient relativement bien étudiées, la question de comment la flexibilité phénotypique des animaux dans leur environnement naturel serait le reflet de mécanismes neuroendocriniens l'est beaucoup moins.

Les médiateurs de l'adaptation au stress comprennent le système neuroendocrinien, le système nerveux autonome ainsi que le système immunitaire. En situation de stress aigu, les principaux médiateurs du stress (catécholamines et glucocorticoïdes) sont indispensables et ont des effets bénéfiques pour l'adaptation et le maintien de l'homéostasie.

Les principales composantes endocriniennes du stress sont relativement similaires chez tous les vertébrés. Après un stress, se produit une augmentation immédiate de catécholamines (épinéphrine et noradrénaline), accompagnée d'une augmentation du tonus sympathique, suivi quelques minutes plus tard d'une augmentation de la libération d'hormones glucocorticoïdes (principalement le cortisol chez les téléostéens et les humains (Øverli, 2001)). Cette augmentation du taux de cortisol est due à la libération de corticolibérine (Cortico-Releasing Factor, CRF) par l'hypothalamus qui stimule la production d'ACTH (Adreno-Cortico-Trophin Hormone) par l'hypophyse aboutissant à la libération de glucocorticoïdes par les glandes surrénales.

La sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT), la dopamine et la norépinéphrine sont des monoamines jouant le rôle de neurotransmetteurs (ou neuromédiateurs), potentiellement impliqués dans la médiation des réponses physiologiques et comportementales de la réponse au stress (Winberg and Nilsson, 1993).

van Oers et al., (2005) ont suggéré l'existence d'un polymorphisme sur le gène du récepteur 4 de la dopamine (DRD4) et le gène codant pour le transport de la sérotonine (5-HT), pouvant influencer les variations comportementales des différents coping style décrits précédemment (proactif-réactif). Les transporteurs de la sérotonine sont des protéines pré-synaptiques qui affectent l'élimination des neurotransmetteurs des fentes synaptiques. Le

³ Processus d'adaptation engendré par le stress (Sterling and Eyer 1988).

polymorphisme fonctionnel dans la région promotrice du gène codant pour le transport de la sérotonine pourrait influencer différentes stratégies de réponses à travers une covariance entre l'anxiété, la peur et les comportements associés (Champoux et al., 2002; Caspi et al., 2003; Kremer et al., 2005; Ellis et al., 2006). En terme de variation, les individus possédant les formes longues de l'allèle DRD4 montreraient une plus grande recherche de la nouveauté (Benjamin et al., 1996; Ebstein et al., 1996; Ellis et al., 2006). L'allèle court est quant à lui associé à une faible efficacité de transcription comparé à l'allèle long, résultant en une expression moindre ainsi qu'une plus faible recapture de la 5-HT dans les neurones présynaptiques. Au niveau comportemental, les individus possédant l'allèle court se montreraient plus anxieux et peureux, et adopteraient des comportements plus attentifs dans des environnements nouveaux (Murphy et al., 2001; Hariri et al., 2002). La sérotonine est ensuite dégradée par des monoamines oxydases qui la convertissent (après différentes réactions chimiques, cf Winberg and Nilsson, 1993) en acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA) et la dopamine en acide 3,4-dihydroxyphenylacétique (DOPAC). La vitesse à laquelle les monoamines dégradent la 5-HT joue un rôle déterminant dans la disponibilité de cette dernière (Holmes, 2008). Tant pour la sérotonine que pour les catécholamines, le rapport entre la concentration dans les tissus cérébraux de leurs métabolites par rapport aux monoamines mères (comme le rapport 5HIAA/5HT ou DA/DOPAC) est fréquemment utilisé comme un index de l'activité neuronale. Une augmentation de la concentration de ces métabolites peut être prise en compte pour indiquer une augmentation de la libération et de la recapture de ces neurotransmetteurs (Øverli, 2001; Shannon et al., 1986; Fillenz, 1993).

Par exemple, des lignées divergentes de truites arc en ciel *Oncorhynchus mykiss* ont été caractérisées selon leurs comportements dans un test d'intrusion territoriale. Les individus appartenant à la lignée LR (proactive) présentaient de plus faibles quantités de 5-HT et de 5-HIAA dans le tronc cérébral et le toit optique en comparaison avec les individus appartenant à lignée HR (réactive) (Puglisi-Allegra and Andolina, 2014). De nombreuses autres études sur la souris et le rat sélectionnés pour des comportements divergents (telle qu'une latence d'attaque courte (SAL) versus latence d'attaque longue (LAL)) démontrent des différences dans leur neurophysiologie (Veenema et al., 2004; Veenema et al., 2005a).

Le schéma suivant illustre la régulation du stress chez les téléostéens (Figure 7).

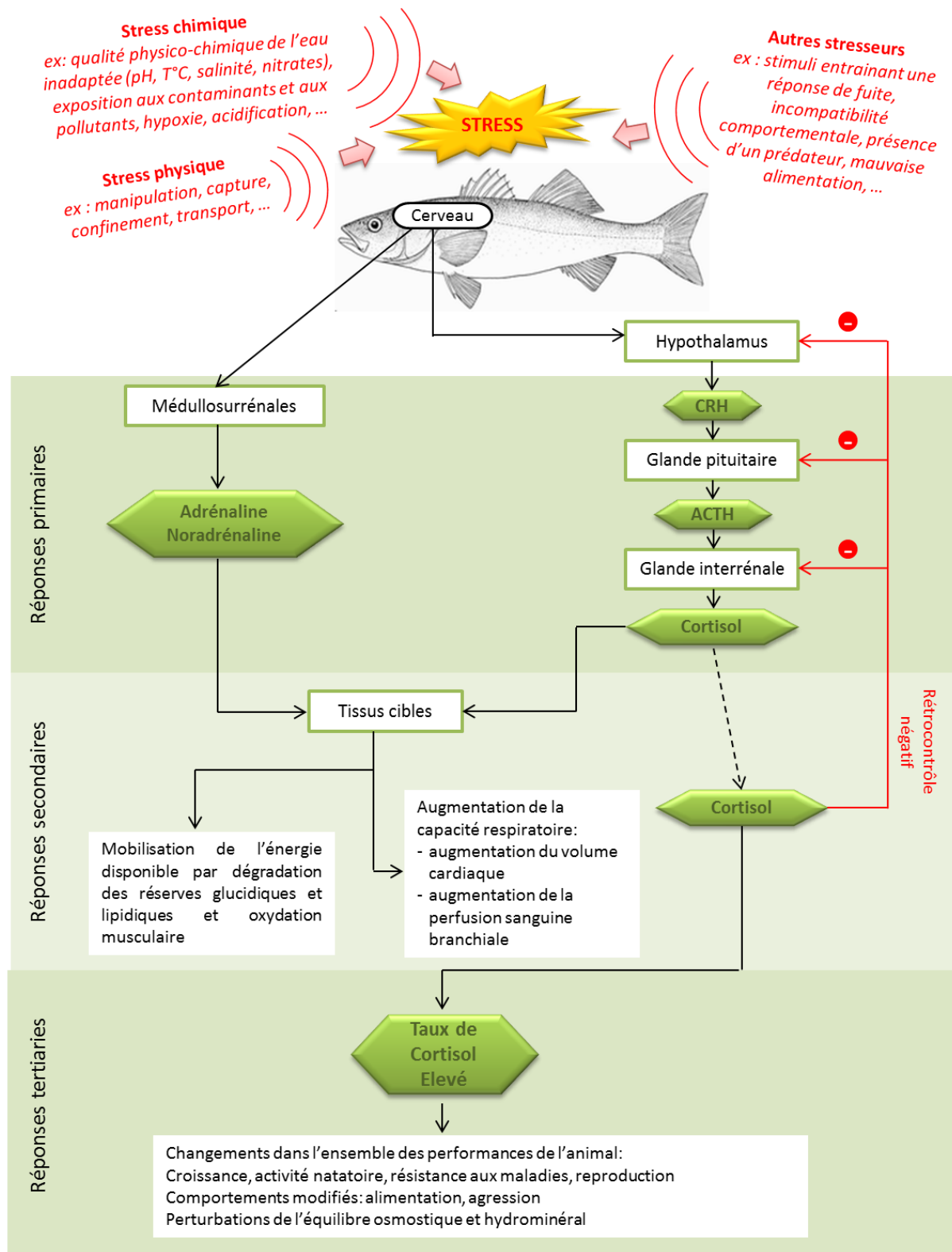


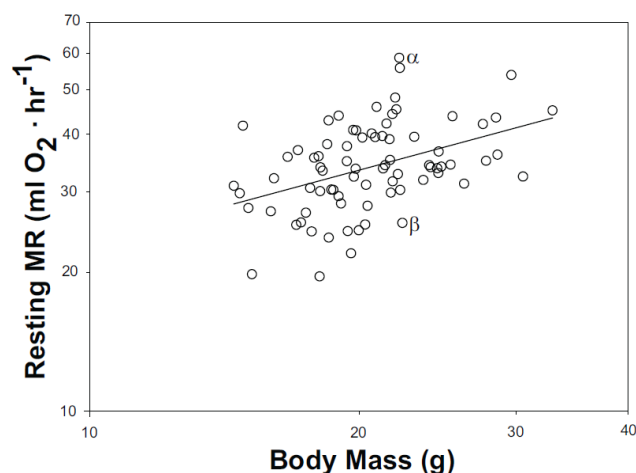
Figure 7 : Représentation schématique de la réponse physiologique et comportementale de la réponse au stress chez les téléostéens (adapté de Barton, 2002).

5.2. Le métabolisme

Le taux métabolique, « metabolic rate, MR » est le taux auquel un animal oxyde des nutriments afin de produire de l'énergie. L'oxygène est utilisé au cours d'un processus dont la phase finale est la phosphorylation oxydative. En condition aérobie, la dégradation d'une molécule de glucose permet de produire 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP), l'ATP servant de « monnaie énergétique » pour réaliser les activités cellulaires (Dupont-Prinet, 2009). En raison de la relation existante entre oxygène et production d'énergie, la consommation d'oxygène d'un individu peut être utilisée pour estimer son métabolisme (Fry, 1971), autrement dit, ses besoins énergétiques. Il existe différentes mesures définies selon les travaux de Fry, (1971) : brièvement, le taux métabolique standard (Standard Metabolic Rate, SMR) correspond à la consommation d'oxygène minimale essentielle pour fournir l'énergie nécessaire au maintien des fonctions vitales de l'organisme (le SMR se mesure au repos, à jeun, et en dehors des périodes de reproduction, de croissance ou de stress). Le taux métabolique de routine (Resting Metabolic Rate, RMR) correspond quant à lui au métabolisme de base auquel s'ajoute le coût des activités telles que la nage ou la digestion. Enfin, le taux métabolique actif (Active Metabolic Rate, AMR) correspond au taux métabolique maximal mesuré après un effort.

Les premiers auteurs qui ont émis l'hypothèse d'un lien entre personnalité et aspect énergétiques sont (Careau et al., 2008). En effet, l'hypothèse des syndromes de rythme de vie « lent-rapide » peut facilement intégrer les liens entre personnalité et métabolisme. Les espèces ayant un rythme de vie « rapide » impliquant un taux métabolique élevé sont forcées d'acquérir plus de nourriture et d'excréter plus de déchets (et plus rapidement) que les individus ayant un rythme de vie « lent » (Careau et al., 2008). La masse corporelle est le principal facteur sous-jacent à la variation inter-spécifique du taux métabolique, expliquant jusqu'à 95 % de la variation comme nous l'avons vu précédemment (Figure 1, Introduction générale - section 1. Variabilité inter-spécifique et intra-spécifique). Cependant, intéressons-nous cette fois à la variation intra-spécifique (Figure 8).

Figure 8 : Variation interindividuelle dans les taux métaboliques de 78 *Peromyscus maniculatus* adultes, en conditions de laboratoire. La masse corporelle explique 18 % de la variance de ce taux métabolique, et non plus 95 % comme expliqué ci-dessus. Comme on peut le constater, les individus α et β ont une masse corporelle similaire, et pourtant, leurs taux métaboliques varient de 25 à 59 ml O₂.h⁻¹, différence d'un facteur 2.4 (Careau et al., 2008).





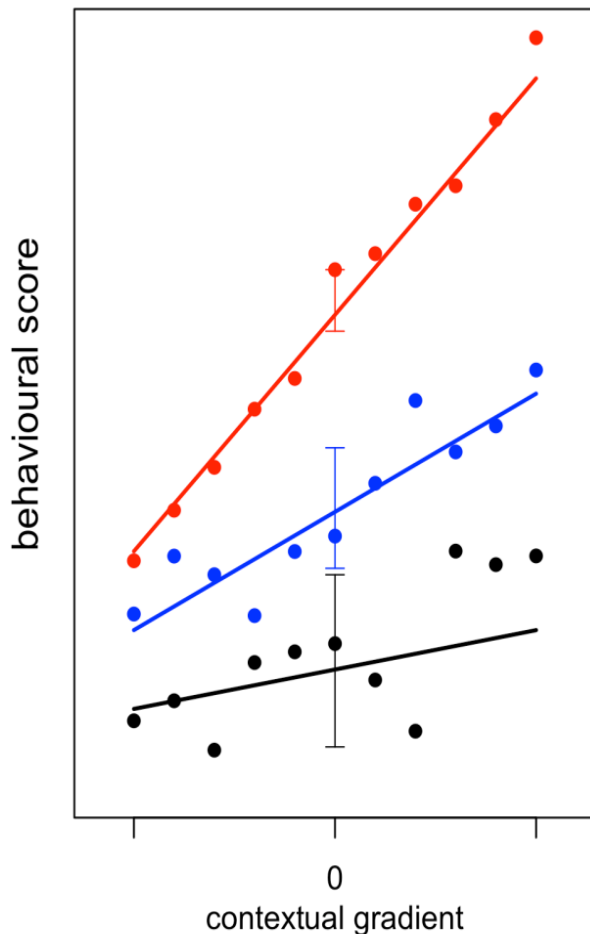
Bien que peu considérés dans les études métaboliques, les comportements individuels peuvent induire de la variation. Par exemple, le fait de placer un individu dans une chambre métabolique engendre du stress, et certains individus ne se calment pas pendant l'expérimentation (hyperactivité), alors que d'autres se calment rapidement. Comme nous l'avons vu précédemment, l'activité est une des composantes de la personnalité, et est généralement cohérente à travers le temps. On comprend maintenant que ces variations sont dues en partie à l'activité (entre autres), et donc à la personnalité. Par ailleurs, l'énergie étant la base du fonctionnement de tout processus vivant, il est possible de faire le lien entre les besoins énergétiques et l'acquisition de nourriture, qui requiert de l'exploration ou de la prise de risque par exemple. En d'autres termes, un individu ayant un taux métabolique élevé sera plus enclin à prendre des risques afin de satisfaire ses besoins énergétiques. Récemment, une étude réalisée sur la daurade royale *Sparus aurata* a démontré l'existence d'un lien entre le comportement de prise de risque et le taux métabolique. Les individus preneurs de risques (*i.e.* audacieux) consomment plus d'oxygène que les individus timides (Herrera et al., 2014) confirmant encore une fois l'hypothèse d'un lien entre personnalité et taux métabolique. De même chez le bar, Killen et al., (2011b) ont démontré qu'il existait une relation positive entre taux métabolique et prise de risque en condition d'hypoxie. Enfin, (Biro and Stamps, 2010) émettent l'hypothèse que les différences inter-individuelles des taux métaboliques constants dans le temps seraient à l'origine des différences inter-individuelles comportementales, autrement dit, la personnalité. En effet, les RMR ont été démontrés comme cohérents sur plus de six mois chez les téléostéens (Cutts et al., 2001), chez l'écureuil rouge (Larivée et al., 2010), ainsi que sur plusieurs années chez les oiseaux (Rønning et al., 2005). Cependant, des études sur le court terme montrent des RMR inconstants (Nespolo and Franco, 2007). Mesurer le métabolisme des individus permettrait donc, couplée à une approche comportementale, de caractériser des individus divergents. L'inverse est aussi possible, c'est-à-dire de caractériser les individus selon leurs réponses comportementales puis déterminer ensuite leur métabolisme afin de déconvoluer les facteurs explicatifs de la variabilité interindividuelle.

6. COHERENCE DANS LE TEMPS, STABILITE, PLASTICITE

6.1. Stabilité *versus* cohérence

Comme nous avons pu le remarquer dans les précédentes définitions, tous ces concepts sont plus ou moins reliés (outre par l'explication de la variabilité comportementale interindividuelle) par le concept de cohérence dans le temps ou bien encore de stabilité du comportement. J'attire l'attention encore une fois sur le fait que même si le concept est en général bien compris, ces termes - stabilité et cohérence - sont quelques fois utilisés de manière interchangeable, alors qu'ils représentent deux concepts bien distincts et très importants, ceci pouvant résulter en quelques confusions.

Comme le soulignent Budaev and Brown, (2011), afin de démontrer que la personnalité animale n'est pas incompatible avec le concept de plasticité comportementale (modification du comportementales en réponse aux facteurs environnementaux), ainsi qu'avec le concept de la personnalité chez les Humains, il est important d'adopter la terminologie développée dans la littérature sur la personnalité humaine et d'y appliquer des analyses statistiques modernes. En effet, deux aspects de la *stabilité* sont distingués en psychologie (Eysenck, 1970; Eysenck and Eysenck, 1985), la *stabilité* et la *cohérence dans le temps* ou *constance*. Le terme stabilité fait référence à un comportement qui ne change pas, c'est-à-dire que le niveau absolu du comportement en question ne change pas. Ce terme fait référence à la stabilité du comportement au niveau individuel. Le terme constance, ou cohérence dans le temps, se réfère quant à lui à la prédictibilité (ou corrélation) lors de mesures répétées d'un même comportement sur les mêmes individus au sein d'une population dans les mêmes situations ou à travers des situations différentes (Nunnally, 1967; Réale et al., 2007). Ce terme fait donc référence à une estimation des comportements (en valeurs relatives) au niveau de la population, et est valable même si les niveaux des comportements changent (Budaev and Zworykin, 2002). Dans la revue de Sih et al., (2004), ces derniers utilisent le terme *constance*, ou *cohérence dans le temps* (dont le sens est le même que celui défini juste avant) mais font la distinction entre cohérence intra-individuelle (stabilité = faibles variations intra-individuelles) et cohérence inter-individuelle (constance = faibles variations inter-individuelles). La cohérence *intra-individuelle* se réfère à « la tendance pour un individu donné, à montrer des comportements cohérents à travers les observations », indépendamment du comportement des autres individus (Sih et al., 2004) alors que la *cohérence inter-individuelle* se réfère à des différences interindividuelles pour un comportement. Autrement dit, les rangs individuels pour le trait étudié sont conservés lors des différentes observations (Sih et al., 2004). Ces auteurs suggèrent aussi que ces deux termes sont indépendants, c'est-à-dire que de la cohérence interindividuelle n'implique pas forcément de la cohérence intra-individuelle, certains individus pouvant être plus flexibles que d'autres. Le concept de plasticité comportementale est illustré en (Figure 9).



Les pentes des lignes correspondent aux plasticités individuelles dans le comportement étudié et les barres d'erreurs représentent les variabilités intra-individuelles moyennes. L'individu représenté en noir possède de faibles valeurs dans sa personnalité pour le trait étudié, une faible plasticité comportementale et une grande variabilité intra-individuelle ; l'individu en rouge possède à l'inverse de hautes valeurs pour sa personnalité, une grande plasticité et une faible variabilité alors que l'individu en bleu a des valeurs moyennes pour sa personnalité, sa plasticité et sa variabilité.

Dans cet exemple, le gradient contextuel pourrait être la température ou la densité de la population et le score comportemental pourrait être l'agressivité. Les individus sont impactés différemment par le changement des conditions environnementales.

Figure 9 : Représentation hypothétique de 3 individus (noir, bleu et rouge) dont le comportement a été mesuré 11 fois selon un gradient environnemental, et qui diffèrent dans leurs personnalités, leurs plasticités et leurs variabilités intra-individuelle (Highcock and Carter, 2014).

Une importante constance intra-individuelle suggère une faible plasticité comportementale et inversement. Cela pourrait d'ailleurs paraître comme un problème adaptatif, la théorie de sélection naturelle laissant supposer la convergence des phénotypes les mieux adaptés à toutes sortes de situations, c'est-à-dire vers une importante plasticité. La théorie de la personnalité impliquant une plasticité limitée, l'apprentissage permet entre autres, une optimisation plus rapide que la sélection naturelle. Récemment, Dingemanse et al., (2010) ont proposé le concept de norme de réactions comportementales, liant les différences individuelles et la plasticité comportementale (Budaev and Brown, 2011).

6.2. Personnalité versus plasticité : Normes de réactions comportementales

Que sont les normes de réactions comportementales ? C'est incorporer à la fois la personnalité et la plasticité individuelle au sein d'un même cadre (Dingemanse et al., 2010). Ce concept permet d'étudier la relation entre la réponse comportementale d'un individu à travers un gradient environnemental (ou contexte). Lorsqu'appliqué à un seul génotype,

cette relation est appelée *norme de réaction* (Sarkar, 1999). Une **norme de réaction** (NR) est un ensemble de phénotypes produits par un seul génotype dans un ensemble d'environnements (Schlichting and Pigliucci, 1998). Lorsque cette approche est appliquée aux traits comportementaux individuels, on parle de *normes de réactions comportementales*. Une **norme de réactions comportementales** (NRC) est donc un ensemble de phénotypes comportementaux produits par un seul individu dans un ensemble donné d'environnements (Smiseth and et al., 2008). Les NRC englobent les informations sur comment un animal se comporte et comment son comportement change selon un gradient environnemental. Cela donne une information précise sur la valeur de la réponse en fonction des conditions environnementales (Dingemanse et al., 2010). Par exemple, la relation entre le comportement anti prédateur et le risque de prédation est une NRC. Cette approche permet donc d'évaluer à la fois la variabilité inter et intra-individuelle.

Pour illustrer, la NRC la plus simple consiste en une relation linéaire entre le comportement d'un individu et une co-variable environnementale, et elle peut se visualiser en ajustant une régression linéaire ayant une certaine élévation : l'intercepte, en terme statistique, représentant la valeur de la réponse comportementale exprimée dans un environnement moyen et la pente, correspondant à la mesure de la plasticité de l'individu. La personnalité correspondrait donc aux différences interindividuelles dans l'élévation de la NRC (Martin and Réale, 2008; Dingemanse et al., 2010; Réale and Dingemanse, 2010). Les méthodes de calcul pour évaluer ce type de réponse sont expliquées dans Dingemanse et al., (2010). Cela consiste principalement à utiliser des modèles mixtes généralisés avec des effets aléatoires.

7. COEVOLUTION DES TYPES COMPORTEMENTAUX ET SELECTION FREQUENCE-DEPENDANTE EN MILIEU NATUREL

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe deux principaux types de stratégies comportementales dites proactives et réactives. Partant du principe que l'évolution sélectionne les individus les mieux adaptés, il est légitime de se demander pourquoi cette sélection n'a pas abouti à un phénotype optimal. On peut aussi se demander pourquoi il existe des différences qui sont cohérentes dans le temps et les situations. En effet, ne devrions-nous pas nous attendre à ce que les individus ajustent leurs réponses aux besoins de la situation ? Une explication peut se trouver dans la théorie de la sélection dite « fréquence-dépendante » (Maynard Smith, 1982). En d'autres termes, les bénéfices apportés par le type comportemental d'un individu vont être dépendants des comportements des autres individus. Par exemple, le fait d'être agressif et compétitif pour l'acquisition des ressources peut représenter un avantage dans certaines situations (environnement stable, ressources limitées). Les individus les plus agressifs et à la croissance



la plus rapide vont être avantagés par rapport aux autres et transmettre leurs gènes à leur descendance. Cependant, le nombre d'individus de ce type va augmenter avec le temps jusqu'à devenir un désavantage. Les gains associés à cette stratégie vont donc diminuer lorsque le nombre d'individus adoptant la même stratégie va augmenter (les individus vont se battre et se blesser, résultant en un plus important taux de mortalité), redonnant l'avantage à la stratégie opposée. On parle dans ce cas de sélection fréquence-dépendante négative. La sélection fréquence-dépendante positive correspond à l'effet inverse, lorsque le nombre croissant d'individus d'un certain type va augmenter les bénéfices. C'est le cas par exemple des comportements grégaires des téléostéens lorsqu'ils forment des bancs. Ceci va augmenter la probabilité de détecter de la nourriture ou des prédateurs. Une autre explication au maintien de différentes stratégies comportementales trouve son origine dans la sélection dite fluctuante. Elle serait due aux fluctuations de l'environnement au cours du temps. Par exemple, lorsque les ressources sont rares, les individus explorateurs seraient avantagés, alors que ce serait le contraire les années où les ressources sont abondantes. L'hétérogénéité environnementale spatiale et temporelle serait donc aussi à la base du maintien de la variation de la personnalité. Enfin, les compromis évolutifs entre fitness, états énergétiques des individus et stratégies de rythme de vie « lent-rapide » sont aussi à la base du maintien et de la coévolution de la variabilité phénotypique comportementale. Par exemple, les individus exposés à de fortes pressions de prédation seraient plus susceptibles de se reproduire précocement afin de compenser le risque de mortalité. Ainsi le compromis entre reproduction précoce et tardive pourrait aussi conduire au maintien de la variation intra populationnelle sur les traits de personnalité (Wolf et al., 2007). Pour maintenir des taux de croissance importants, les individus ont constamment besoin d'apports énergétiques, qui peuvent être acquis principalement en étant audacieux, agressifs et actifs (Stamps, 2007).

8. PERSONNALITE ET APPROVISIONNEMENT EN NOURRITURE

Chez les animaux vivant en groupes, les individus ont principalement deux types de stratégies comportementales (Giraldeau and Beauchamp, 1999) : les individus ont le choix entre chercher eux-mêmes leur propre source de nourriture - être « producteurs » ou bien exploiter les sources de nourriture découvertes par leurs conspécifiques - être « chapardeurs ». On parle aussi de compétition par exploitation. Ces stratégies sont aussi régulées par la sélection fréquence-dépendante négative. En effet, les bénéfices associés à un phénotype dépendent de la fréquence à laquelle ce phénotype s'exprime dans la population (Barnard and Sibly, 1981). Plus il y aura de chapardeurs dans un groupe et moins les bénéfices seront importants. Ce type de sélection permet donc le maintien au sein d'une population, de deux phénotypes à des fréquences stables. Une étude de Dyer et al., (2009) chez le guppy a démontré que les groupes expérimentalement constitués d'individus

proactifs et réactifs ont de meilleurs taux d'approvisionnement que les groupes mono-stratégiques, probablement en raison d'une compétition par interférence moins importante. Comme l'acquisition des ressources alimentaires semble être en interaction avec de nombreux facteurs (besoins énergétiques, disponibilité, abondance, compétition, etc.), il semble logique que ces stratégies d'approvisionnement soient en partie liées aux traits de personnalité des individus. Une seconde stratégie d'approvisionnement en groupe est la compétition par interférence, c'est-à-dire par des interactions agonistiques, dont le succès sera principalement prédit par la taille et l'agressivité des individus, mais aussi par leurs états initiaux. Cette stratégie semble être celle adoptée par les salmonidés (qui sont plutôt territoriaux et solitaires) lorsqu'ils sont soumis à des conditions expérimentales d'auto-alimentation. A l'inverse, le bar européen semble plutôt adopter une stratégie d'exploitation lorsqu'il est mis dans ces mêmes conditions (Di-Poï et al., 2008). Ceci confirme l'existence de différents types de stratégies d'approvisionnement probablement liées aux personnalités, qui seraient en partie dues aux traits d'histoire de vie des individus, et démontre la puissance expérimentale de l'utilisation des systèmes d'auto-alimentation pour une meilleure compréhension des stratégies d'approvisionnement.

9. IMPACT ECOLOGIQUE (ET ECONOMIQUE) DE LA PERSONNALITE ANIMALE

La personnalité animale se retrouve au niveau de l'individu, de la population et de l'espèce, et comme le type comportemental affecte la fitness des individus, la personnalité a donc des implications majeures dans les phénomènes écologiques naturels (Biro and Stamps, 2008). On comprend donc l'importance de bien analyser les réponses comportementales des individus face à leurs environnements et aux variations de ce dernier. En effet, les individus réagissant différemment, il apparaît clair que certains individus seront mieux adaptés à certains types d'environnements (comme l'élevage par exemple). Il s'avère que si ces profils comportementaux sont héréditaires, ils pourraient être sélectionnés afin d'améliorer la capacité des individus à s'adapter aux conditions auxquelles ils sont soumis, ou bien d'adapter les conditions aux profils comportementaux des individus.

En effet, l'étude des stratégies de réponses comportementales (*coping styles*) ont de nombreuses applications dans différents domaines (voir Castanheira et al., (2013b) incluant l'écologie comportementale (Réale et al., 2007), l'écologie évolutive (Sih et al., 2004a), les neurosciences (Veenema et al., 2003a), l'aquaculture (Huntingford and Adams, 2005), le bien-être animal (Øverli et al., 2004b), la santé et la sensibilité aux maladies (Fevolden et al., 1993a; Koolhaas, 2008), les traits de performances (Martins et al., 2011b) ainsi que l'interprétation des réponses moléculaires (MacKenzie et al., 2009). La dimension économique de l'étude de la personnalité prend ici toute son importance.



10. HERITABILITE DU COPING STYLE

La sélection phénotypique aura des conséquences évolutives seulement lorsque la variation phénotypique est héritable (Petri Hoskonen, 2006; Lefevre et al., 2008). Le fait que ces différentes stratégies comportementales (ou personnalités) se maintiennent au cours de l'évolution signifie qu'elles sont en partie hérissables. Le fait qu'elles soient hérissables signifie donc qu'elles sont potentiellement sélectionnables de manière dirigée (Introduction générale - section 11. Le concept de sélection et de domestication) et cette dimension pourrait être incluse dans des programmes de sélection. Sélectionner les individus en incluant le coping style permettrait donc de co-sélectionner des caractères de résistance aux maladies, ou bien de faibles taux de cortisol plasmatiques suite à des situations de stress.

Chaque individu possède des caractères qui lui sont propres, et l'ensemble de ces caractères constituent le phénotype. Un trait phénotypique tel qu'il est observé est la résultante de facteurs génétiques et environnementaux. La part génétique du trait considéré est transmissible à la descendance, et est donc hérissable, contrairement à la part environnementale qui ne l'est pas. L'hérissabilité (h^2) est donc la proportion de la variance phénotypique attribuable à la variance génotypique additive. Enfin, pour qu'un trait soit hérissable, il faut qu'il montre de la variation phénotypique au sein des individus, qu'il ait une composante génétique significative et qu'il affecte la fitness.

La génétique du *coping style* n'en est qu'à ses prémices, mais quelques études ont démontré l'existence d'un *Quantitative Trait Loci* (QTL) associé à l'audace et à la réponse au stress (Benus et al., 1991; Dingemanse et al., 2002; van Oers et al., 2004; Wright et al., 2006; Dingemanse et al., 2012; Rexroad et al., 2012; Quillet et al., 2014), suggérant la possibilité de sélectionner les individus sur cette base. En quatre générations de sélection bidirectionnelle sur le caractère audacieux et exploratoire chez la mésange charbonnière *Parus major*, Drent et al., (2003) ont démontré que le caractère exploratoire possédait une base génétique ($h^2=0.54$). van Oers et al., (2004) ont eux démontré le caractère hérissable du comportement audacieux chez cette même espèce ($h^2=0.32$). Chez les mammifères, des lignées divergentes de souris concernant le caractère agressif (Short Attack Latency versus Long Attack Latency, Veenema et al., 2004; Veenema et al., 2005) ont été développées depuis plusieurs générations, ce qui signifie que le caractère agressif est aussi hérissable. Enfin, chez les téléostéens, l'existence d'un QTL de l'audace a été démontré chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) (Wright et al., 2006). L'hérissabilité de la réponse au stress, et en particulier du taux de cortisol plasmatique post stress a été étudié principalement chez les salmonidés (Fevolden et al., 1991; Fevolden et al., 1993b; Fevolden et al., 1993c; Pottinger and Pickering, 1997; Pottinger and Carrick, 1999; Fevolden et al., 2002; Pottinger, 2003). Pottinger and Pickering, (1997) et Pottinger and Carrick, (1999) ont créés des lignées divergentes sur le taux de cortisol plasmatique chez la truite arc en ciel. Ces lignées sont aujourd'hui caractérisées pour de nombreux traits comportementaux, physiologiques, neurophysiologiques et génétiques

et constituent un modèle important concernant la sélection des réponses comportementales chez les téléostéens. Elles sont divergentes sur l'ensemble des caractères énoncés précédemment (Pottinger and Carrick, 2001b; Øverli et al., 2002; Øverli et al., 2004c; Øverli et al., 2005; Øverli et al., 2006a; Schjolden et al., 2006; Øverli et al., 2007a; Ruiz-Gomez et al., 2008). Nous venons donc de voir que l'agressivité, l'exploration, l'audace, mais aussi les réponses physiologiques sont en partie héritables, et ces traits correspondent bien à la définition de la personnalité.

Il faut cependant garder à l'esprit que les héritabilités observées en laboratoire ne sont pas réellement comparables (souvent supérieures) à celles observées en milieu naturel, en raison de l'importante part de la variabilité environnementale en milieu naturel.

Comme nous l'avons vu dans la section précédente (Impact écologique et économique de la personnalité animale), le fait que des comportements et des réponses physiologiques puissent être sélectionnés, laissent envisager un nombre important d'applications, telles qu'énumérées précédemment. Dans la partie suivante, nous allons approfondir ce qu'est la sélection, et comment elle s'opère.

11. LE CONCEPT DE SELECTION ET DE DOMESTICATION

Les débuts de la domestication remontent à 10 000 – 15 000 ans et la première espèce domestiquée fût l'ancêtre du chien *Canis lupus* (Brisbin and Risch, 1997). La sédentarisation des Hommes associée à leurs besoins de s'approvisionner en nourriture les a poussé à domestiquer différentes espèces qui leurs étaient utiles (plantes et animaux). Chez les plantes la domestication est le « processus de sélection artificielle menée par l'homme pour accentuer certains caractères intéressants et en amoindrir d'autres non désirés et présents chez les plantes sauvages » (Harlan, 1992). Chez les animaux, elle est plutôt définie comme « le processus par lequel une population animale devient adaptée à l'homme et à un environnement de captivité par des changements génétiques intervenants au cours des générations » (Price, 1984). Selon le Ministère de l'environnement français, les espèces domestiques sont celles ayant « fait l'objet d'une pression de sélection continue et constante aboutissant à la formation d'un groupe d'animaux qui a acquis des caractères stables et génétiquement héritables » (NP/94/6 du 28 octobre 1994). Le fait qu'un animal soit né en captivité ne signifie donc pas qu'il est domestiqué, on parle alors d'espèce sauvage captive.

Le processus de domestication est indissociable de celui de la sélection. C'est en effet après différentes étapes de sélection qu'une espèce devient domestiquée. Il existe trois types de sélection : la sélection artificielle, la sélection induite par la captivité et le relâchement de la sélection naturelle (Price and King, 1968; Price, 1998) (Figure 10).

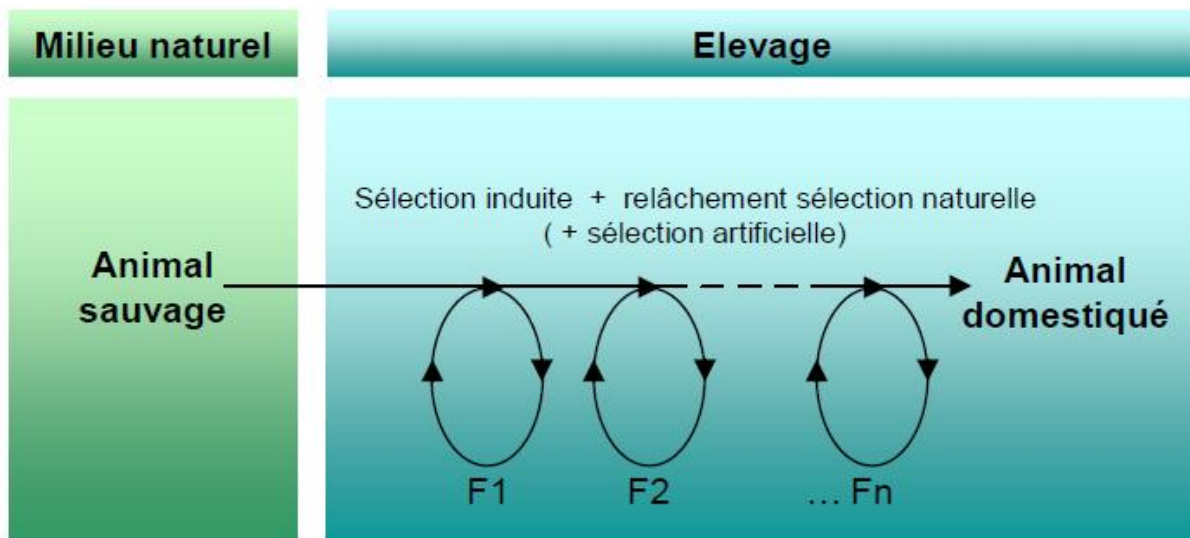


Figure 10 : Le concept de la domestication et de la sélection (concept selon Price & King, 1968) et schéma d'après Millot, 2008. F = génération; 1, 2, ..., n = nombre de générations.

La sélection artificielle est largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire, et concerne principalement des caractères phénotypiques de production tels que le poids, la taille, la productivité, etc. (listés dans Millot, (2008)). A chaque génération, on sélectionne les individus extrêmes afin d'amplifier le caractère d'intérêt (Figure 11).

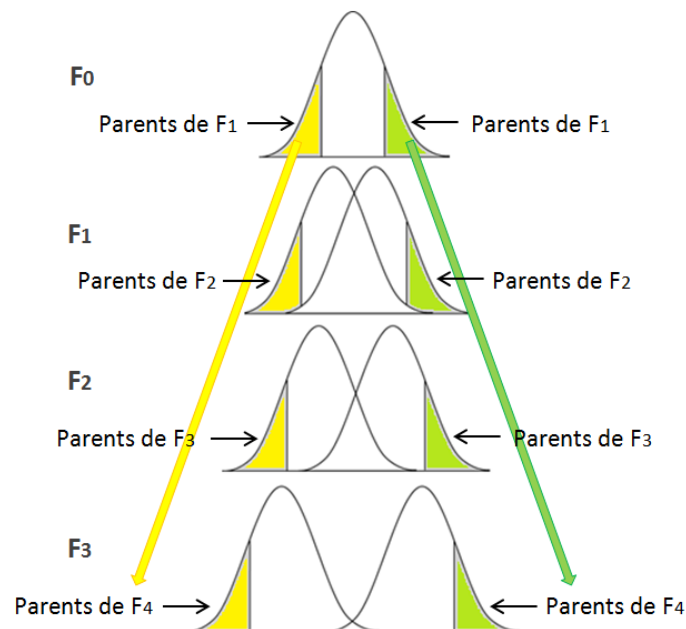


Figure 11 : Schéma illustrant la sélection de caractères d'intérêts sur plusieurs générations. F = générations.

Il arrive cependant que certains caractères soient co-sélectionnés avec le caractère d'intérêt par exemple. Beaucoup de traits sont en effets génétiquement corrélés entre eux. La sélection induisant des changements de la valeur moyenne d'un trait cause aussi des changements sur d'autres traits (Price and Langen, 1992). Ceci correspond à la sélection fortuite, et peut avoir des conséquences positives ou négatives. Par exemple, en aquaculture la sélection de la maturité sexuelle tardive afin d'améliorer la croissance a contribué à une dégradation de la qualité de la chair (Fontaine and Le Bail, 2004).

La sélection induite par la captivité est le mécanisme de base des changements génétiques chez les populations captives. Elle représente les sélections qui ne sont pas issues de la volonté de l'homme, comme par exemple la mortalité des animaux les moins bien adaptés aux conditions d'élevage.

Enfin, le relâchement de la sélection naturelle intervient principalement lors du passage du milieu sauvage au milieu captif. Les pressions de la sélection naturelle telles que la prédation ou la disponibilité en nourriture n'agissant plus, les traits sous-jacents (tels que les comportements de fuite face à un prédateur ou encore l'exploration) vont s'en trouver diminués.

Le processus de domestication peut être divisé en trois phases successives (Bilio, 2007) :

- La phase de pré-domestication qui correspond à la phase d'adaptation à l'élevage et au succès persistant de la reproduction contrôlée.
- La phase de sélection dirigée qui correspond donc à la sélection des caractères d'intérêts et éventuellement à l'élimination de traits non désirés.
- La stabilisation génétique des lignées.

Le processus de domestication se traduit généralement par une diminution de la fréquence ou de l'intensité avec laquelle un comportement particulier s'exprime (Price, 1984). Les traits comportementaux sont parmi les premiers à être affectés par ce processus (Ruzzante, 1994).

11.1. Spécificité chez les téléostéens

Une des spécificités de la domestication chez les téléostéens, est qu'elle est très récente. En effet, elle apparait avec l'élevage de la carpe *Cyprinus carpio* et du poisson rouge *Carassius auratus* il y a environ 3500 ans (Balon, 1995; Liao and Huang, 2000). Cependant la domestication d'espèces marines dans le sens où on l'entend aujourd'hui est beaucoup plus récente (Figure 12).

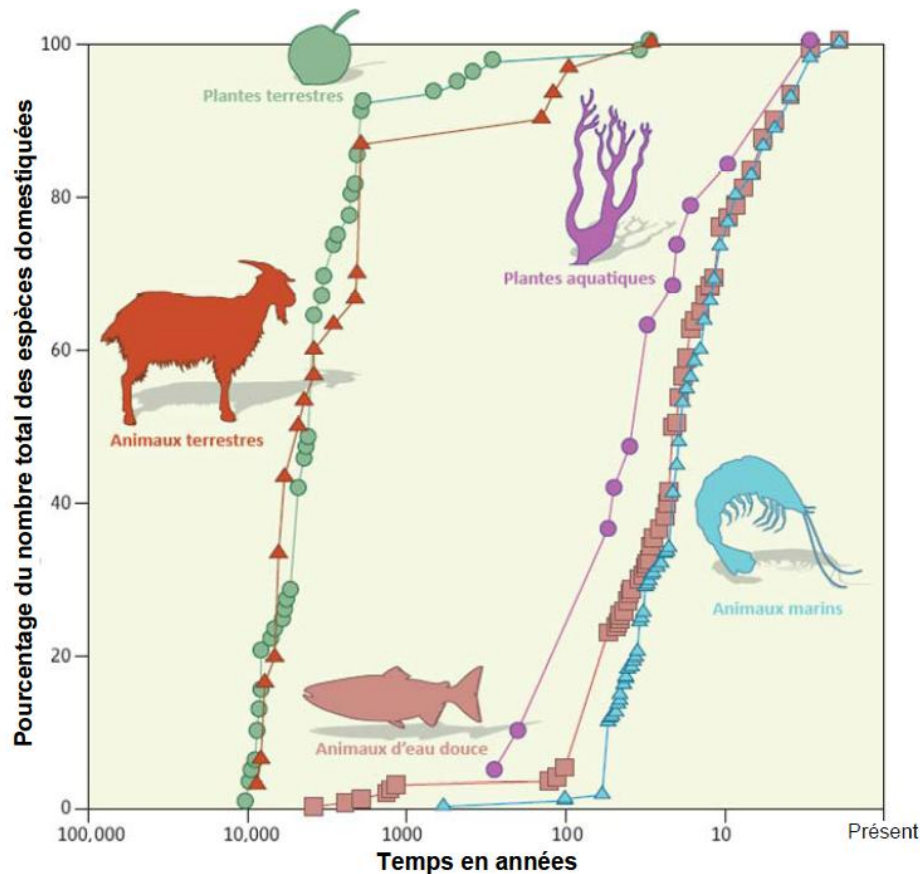


Figure 12 : Evolution temporelle du pourcentage du nombre total des espèces domestiquées (Duarte et al., 2007)

La sélection de critères adaptatifs, tels que la tolérance au stress permet d'améliorer le processus de domestication. Selon Balon, (2004), seules quelques espèces de téléostéens peuvent être considérées comme réellement domestiquées, la plupart des autres espèces reposent encore sur l'apport fréquent d'individus sauvages (Vandeputte and Launey, 2004). Par ailleurs, les cycles d'élevage et de reproduction ne sont qu'imparfaitement maîtrisés. On parle donc plutôt d'espèces sauvages captives, ou encore de domestication zootechnique. Cependant, ceci présente certains avantages car l'importante variabilité génétique des espèces « génétiquement sauvages » permet un impact rapide des processus de domestication et de sélection, parfois dès les premières générations (Vandeputte and Prunet, 2002; Bégout Anras and Lagardère, 2004). Une description des effets de la domestication chez les téléostéens est listée dans les travaux de Benhaïm, (2011). S'ajoute à cela les progrès techniques en la matière, associés à des nouveaux critères comme par exemple l'adaptation et le bien-être. Comme nous l'avons vu précédemment, il semblerait que certains types comportementaux ou coping styles seraient mieux adaptés à certains types d'environnements, et qui plus est, certains traits seraient en partie héréditaires, et donc potentiellement sélectionnables. Ceci permettrait entre autre d'améliorer le bien-être des individus.

12. LE CONCEPT D'ADAPTATION ET DE BIEN-ETRE

Arms and Camp, (1989) distinguent trois types d'adaptations. Les adaptations anatomiques, les adaptations physiologiques et les adaptations comportementales. Une revue détaillée des différentes définitions de l'adaptation se trouve dans Benhaim (2011). Nous nous intéresserons dans cette partie à l'adaptation au sens large du terme, c'est-à-dire à l'adaptation fonctionnelle de l'être vivant au milieu environnant. Cette dernière implique donc l'adaptation génétique, physiologique et comportementale. Globalement, lorsque les individus ne parviennent pas à répondre aux situations auxquelles ils sont confrontés, ceci peut résulter en une altération du bien-être (Figure 13). Il est communément considéré que les individus les plus productifs dans l'environnement qui leur est imposés sont les mieux adaptés (Faure, 1979).

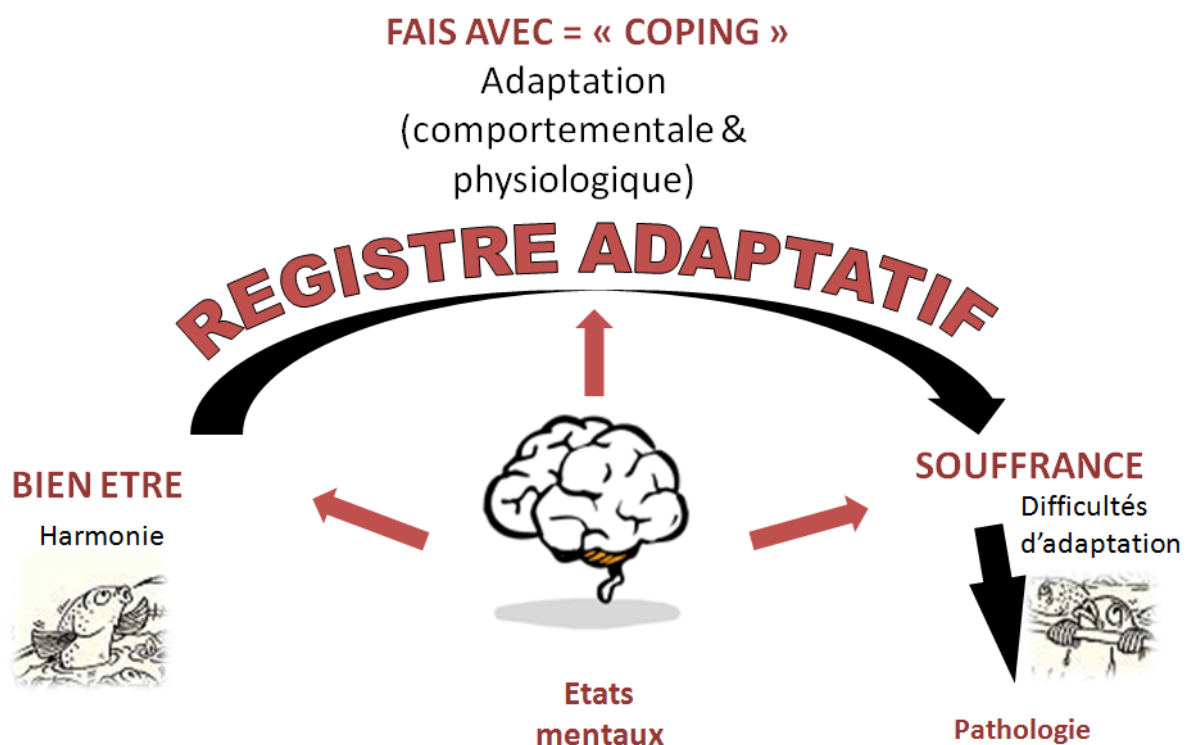


Figure 13 : Registre adaptatif et bien-être animal : le bien-être animal est un état mental qui dépend de la façon donc cet animal perçoit son environnement. S'il perçoit que l'environnement satisfait toutes ses motivations, alors l'état mental sera le bien-être. Si l'environnement n'est pas idéal mais que l'animal perçoit qu'il pourra s'y adapter, alors l'état mental sera un état de « coping » (« je fais avec »). Si au contraire, l'animal perçoit qu'il a des difficultés pour s'adapter, alors la souffrance peut s'installer, les fonctions biologiques pourront être perturbées : modification de l'organisation des comportements et du fonctionnement des systèmes physiologiques impliqués dans le stress, diminution de l'état général pouvant aller jusqu'à l'apparition de pathologies, et à plus long terme jusqu'à la mort. Adapté de (Veissier et al., 2007).



La notion de bien-être et d'adaptation dans ce cas reflète bien une expérience subjective de l'individu, qui renvoie à l'individualité de la perception du stress. Le coping style correspond donc aux réponses (physiologiques et comportementales) des individus lorsqu'ils essaient de s'adapter à différentes situations. C'est pourquoi mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de la personnalité animale et du coping style peut aider à améliorer les conditions de bien-être, en sélectionnant par exemple des individus mieux adaptés à leur environnement.

Afin de déterminer si le bien-être d'un animal est compromis, différents aspects des conditions de vie de celui-ci doivent être étudiés. Les performances de croissance ainsi que les réponses physiologiques et comportementales sont souvent utilisées pour évaluer l'état de bien-être d'un animal. Ces réponses ne peuvent pas être étudiées séparément car elles sont étroitement liées les unes aux autres. Pourtant, jusqu'à présent, l'étude des effets des conditions d'élevage sur les téléostéens en ferme aquacole s'est limitée principalement à l'étude des performances de croissance et/ou aux réponses physiologiques des animaux (Thetmeyer et al., 1999; Kavadias et al., 2003). Ainsi, les réponses (alimentation, croissance, etc.) à différentes conditions environnementales telles que la densité, la température et la photopériode, ainsi qu'à différents systèmes d'alimentation ont été les principaux axes de recherche en aquaculture depuis une vingtaine d'années (Alanärä, 1992c; Hughes et al., 1992; Sanchez-Vazquez et al., 1995; Mallekh et al., 1998; Lemarié et al., 2004; Rubio et al., 2004; Marchesan et al., 2005; Mambrini et al., 2006; Handeland et al., 2008). Aujourd'hui, on considère que les réponses comportementales alimentaires et sociales sont aussi primordiales pour l'évaluation du bien-être chez les téléostéens (Huntingford et al., 2006; Di-Poi, 2008). Malgré le peu de recul sur l'impact de la captivité sur les espèces aquacoles, il semble néanmoins que cette dernière conduise chez les Téléostéens à des modifications proches de celles observées chez les espèces terrestres (perte des comportements « naturels » anti prédateurs et migratoires, perturbations de la reproduction, modification de l'agressivité, de la croissance, de l'alimentation et de la locomotion (Babouchkine Y.P., 1987; Bégout Anras and Lagardère, 2004; Millot, 2008).

Compte tenu de la multiplicité des facteurs biologiques qui sont associés au bien-être des poissons, la stratégie actuelle la plus fiable pour l'évaluer reste la mesure simultanée de plusieurs indicateurs comportementaux et physiologiques du bien-être, associée aux différents volets biologiques de ce dernier. C'est à partir des informations acquises sur les réponses biologiques aux situations de stress qu'ont été élaborés ces indicateurs de perturbations du bien-être chez les téléostéens. Les travaux menés à ce jour montrent clairement que pour réagir aux facteurs de stress, les téléostéens possèdent globalement les mêmes stratégies physiologiques et comportementales que les vertébrés terrestres (Barton, 1997; Wendelaar Bonga, 1997; Huntingford and Adams, 2005). Ils sont également capables, dans certains cas, de mettre en place des réponses comportementales et physiologiques intégrées qui recouvrent des stratégies d'opportunités décrites chez les mammifères (Koolhaas et al., 1999; Huntingford and Adams, 2005).

En élevage les téléostéens sont soumis à des stress aigus et/ou chroniques lors des manipulations, des tris par taille, etc., mais aussi en raison de la qualité physico-chimique de l'eau et du confinement. Ces situations de stress répétés peuvent avoir des conséquences négatives plus ou moins importantes sur leurs performances (croissance, reproduction, résistance aux pathogènes) (Pickering, 1992). Différentes solutions existent pour améliorer le bien-être des téléostéens en élevage qui sont généralement d'ordre technique, mais peuvent aussi être apportées par une amélioration génétique de l'espèce. En effet, le protocole de gestion du stress et de l'amélioration du bien-être passe en premier lieu par le respect de la qualité du milieu d'élevage répondant aux besoins de l'espèce, par la limitation des manipulations et par l'attention portée aux changements comportementaux des animaux et à l'apparition de maladies (Conte, 2004). En dehors des solutions techniques, il est possible d'envisager la mise en place d'une sélection de caractères physiologiques et comportementaux favorisant une meilleure adaptation des individus aux conditions d'élevage. En effet, la variabilité génétique existante, à relier au caractère récent de la domestication piscicole permet une sélection aux effets quasi immédiats, parfois dès la première génération (Vandeputte and Prunet, 2002; Bégout Anras and Lagardère, 2004; Huntingford, 2004). Ceci permet d'envisager, mis à part l'amélioration des performances, de sélectionner des téléostéens ayant une meilleure tolérance au stress de l'élevage, mais aussi aux fluctuations de leur environnement. La tolérance au stress, bien que peu étudiée comme cause ou conséquence de la domestication, a un impact considérable sur l'adaptation des animaux à l'élevage. Le problème majeur pour sélectionner ces caractères réside dans la mise au point de challenges reproductibles à faibles coûts, réalisables sur un grand nombre d'individus.



MATERIEL BIOLOGIQUE D'ETUDE : LE BAR EUROPEEN, *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNAEUS, 1758)

1. Historique

Le modèle biologique étudié lors de cette thèse est le bar Européen, *Dicentrarchus labrax* (Linné, 1758). Cette espèce, d'importance majeure pour l'aquaculture Européenne, a depuis longtemps été convoitée par les pêcheurs. Espèce autrefois cultivée dans les lagunes côtières, sa production en masse a démarré à la fin des années 1960. La France et l'Italie ont réussi à développer des techniques fiables de production de juvéniles de bar européen et, vers les années 1970, la plupart des pays de la Méditerranée ont pu commencer l'exploitation de masse. Le bar européen a été le premier poisson marin n'appartenant pas aux salmonidés commercialement cultivé en Europe et de nos jours, il fait partie des espèces les plus largement cultivées dans la région de la Méditerranée. Les principaux pays producteurs sont la Grèce, la Turquie, l'Espagne, la Croatie et l'Egypte.

(Source : http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/fr)

2. Position systématique

Le bar européen est un Téléostéen de l'ordre des Perciformes et de la famille des Moronidés. Voici sa position systématique :

Classe: Ostéichthyens

Sous-classe: Actinoptérygiens

Super-ordre: Téléostéens

Ordre: Perciformes

Sous-ordre: Percoidei

Famille: Moronidae

Genre: *Dicentrarchus*

Espèce: *Dicentrarchus labrax*

Noms vernaculaires : bar commun, loup (en méditerranée), loubine, louvine, perche de mer, European seabass en anglais.

3. Morphologie

Il possède un corps assez allongé, peut atteindre une longueur de 1 mètre et peser jusqu'à 15 kilogrammes. L'origine grecque de son nom, *Dicentrarchus*, rappelle une de ses caractéristiques morphologique : la présence de deux nageoires dorsales séparées : la première avec 8 à 10 épines et la seconde avec une épine et 12 ou 13 rayons mous (Figure 14). La nageoire anale quant à elle possède 3 épines et 10 ou 12 rayons mous. Le nom d'espèce *labrax* signifie « vorace » en grec. Le nom « bar » est d'origine germanique et signifie « la pointe » en référence aux épines dorsales aiguisées. Les opercules possèdent 2 épines plates et les pré-opercules possèdent de grandes épines dirigées vers l'avant sur le bord inférieur. Le bar a une bouche terminale, modérément protractile, avec des dents vomériennes en une bande formant un croissant sans extension sur la ligne médiane de la voûte de la bouche. Le corps est muni de petites écailles (62 à 74 pour la ligne latérale), mais sans arriver jusqu'à la nageoire caudale. De couleur gris argenté à bleuâtre sur le dos, argenté sur les côtés, avec le ventre parfois teinté de jaune, les jeunes peuvent avoir quelques taches sur le haut du corps mais pas les adultes. Le bar possède une tache noire diffuse sur le bord de l'opercule

(Description FAO, http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/fr).

Il n'y a pas de véritable dimorphisme sexuel externe. La différenciation ne peut se faire qu'au niveau interne après dissection et observation des gonades qui ont une morphologie différente : celles des mâles sont blanchâtres et présentent une section triangulaire alors que celles des femelles sont jaune-orangées, ont une forme cylindrique.

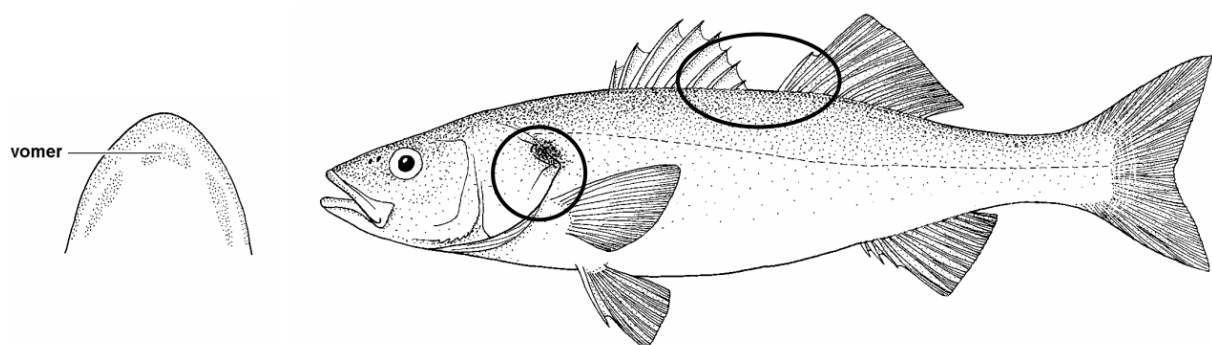


Figure 14 : Morphologie externe du bar européen, *Dicentrarchus labrax* (Linné, 1758). Les principales caractéristiques de cette espèce sont entourées: opercules épineux et double nageoire dorsale ainsi que son vomer en forme de croissant. D'après (Quero et al., 2003).



4. Distribution géographique et biologie

L'aire de répartition du bar s'étend, dans l'Atlantique nord-est, des côtes du Maroc au sud de la Norvège (30° à 60° Nord) incluant la mer d'Irlande, la mer du Nord, la mer Baltique, ainsi que la mer Méditerranée et la mer Noire (Figure 15).



Figure 15 : Répartition géographique du bar Européen (source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Bar_commun).

Les adultes ont des comportements démersaux, on les trouve jusqu'à des profondeurs d'une centaine de mètres, et ils peuvent aller jusqu'à environ 80 km des côtes, mais ils sont plus communs dans les eaux littorales peu profondes (Lloris D., 2002). Espèce euryhaline (5 à 28°C) et eurytherme (3 à 38‰), les bars sont capables de fréquenter les eaux côtières intérieures, les estuaires et les lagunes saumâtres. Certains spécimens ont été observés en embouchures de rivières dans des eaux presque douces. Ils migrent en eaux profondes l'hiver et la période de fraie a lieu au printemps. Les œufs sont pélagiques de petite taille (1.02 à 1.39 mm) (Kennedy and Fitzmaurice, 1968) et mettent de deux à cinq jours pour éclore. Les larves mesurent environ 4 mm à l'éclosion (Barnabé, 1976). Les jeunes vivent en banc et ont un comportement grégaire plus prononcé que les adultes (Barnabé, 1980; Bas Peired, 2002; Frimodt, 1995). Des variations de croissance sont observées tout au long de leur aire de répartition, avec des croissances supérieures lorsque l'on descend vers le sud. Ainsi, à l'âge de cinq ans, la taille moyenne des femelles est de 54 cm en Méditerranée, 40 cm sur les côtes bretonnes et 35 cm en Irlande. Celle des mâles est de 48 cm en Méditerranée, 39 cm sur les côtes bretonnes et 33 cm en Irlande (Gallet F. and Cazaubon E., 1998). Il existe une différence de croissance entre les sexes, à âge égal, les femelles sont plus grandes que les mâles. Le bar est une espèce prédatrice opportuniste et très active, se nourrissant de crevettes, crustacés et mollusques, ainsi que de poissons (Tortonese, 1986; Millot et al., 2014). Les juvéniles se nourrissent aussi d'invertébrés alors que les adultes sont plutôt piscivores (Kottelat and Freyhof, 2007). Les jeunes comme les adultes chassent en bancs, capturant toutes les espèces saisonnières abondantes dans leurs zones de répartition.

5. Maturité sexuelle

Les populations du sud (*i.e.* Méditerranée) atteignent leur maturité sexuelle plus précocement que celles de l'Atlantique (Barnabé, 1980). Les mâles sont plus précoces que les femelles en terme de maturation. En Atlantique, les mâles sont généralement matures à l'âge de 4 ans pour une taille de 31 à 37 cm contre deux à trois ans pour une taille de 23 à 30 cm en Méditerranée. Les femelles sont matures entre cinq et six ans pour une taille de 31 à 40 cm en Atlantique contre 3 à 4 ans pour une taille de 31 à 40 cm en Méditerranée (Barnabé, 1980).

6. Comportement social

Le phénomène de grégarisme observé chez le juvénile a été mis en évidence aussi bien en milieu naturel qu'en captivité (Barnabé; 1976; 1978). Lorsqu'il est élevé seul (Di-Poï, 2008), le bar présente de fortes perturbations comportementales (Anthouard, 1987) et des retards de croissance (Stirling, 1977).

7. Populations expérimentales

L'Ifremer a rassemblé et développé depuis une dizaine d'années sur la station expérimentale d'aquaculture de Palavas les Flots, des cheptels expérimentaux offrant un support d'étude caractérisé en fonction de leur origine géographique, leur variabilité ou valeur génétique, leurs caractéristiques physiologiques et/ou comportementales, etc. La caractérisation comportementale de ces populations permettra d'évaluer l'impact de la domestication et probablement d'améliorer les processus de cette dernière.

Différents lots de bars appartenant à quatre types de lignées ont été utilisés au cours de ces travaux. Nous appellerons « lot » une population de bar élevés afin de réaliser nos expérimentations:

- Le premier lot utilisé provenait de l'écloserie marine Aquastream (5 chemin des viviers 56270 Ploemeur, France), dont l'origine géographique et génétique (probablement une sélection sur la croissance) ne sont pas réellement connues, et qui a constitué le standard commercial (Tableau 3).
- Le second lot utilisé était une lignée « Croissance », avec un type de sélection « Massale » issu de deux générations de sélection sur la croissance, développée par l'Ifremer. Cette lignée sera appelée lignée croissance (Tableau 3).

(<http://wwwz.ifremer.fr/mediterranee/aquaculture/Cheptels-experimentaux-de-bar/Selection-Croissance>).



- Les troisièmes et quatrièmes lots provenaient d'une lignée divergente sur les capacités de résistance au jeûne, appelée lignée « Résistance au jeûne », développée par l'Ifremer. Cette lignée sera appelée lignée résistance au jeûne (Tableau 3).

(<http://wwz.ifremer.fr/mediterranee/aquaculture/Cheptels-experimentaux-de-bar/Selection-Resistance-au-jeune>).

- Les cinquièmes et sixièmes lots provenaient d'un croisement factoriel complet entre 10 femelles et 50 mâles, de manière à avoir un maximum de variabilité génétique. Cette population correspond à une lignée non sélectionnée (Tableau 3).

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Les objectifs de cette thèse sont :

Caractérisation : L'objectif 1 est de développer une procédure multicritère (comportementaux, physiologiques, neurophysiologiques et génétiques) pour caractériser la personnalité des téléostéens, et en particulier du bar européen, en évaluant la cohérence des réponses comportementales dans le temps et/ou les situations. Ceci consiste en premier lieu à adapter des tests comportementaux couramment utilisés chez les salmonidés, puis à déterminer les tests les plus pertinents au regard des réponses comportementales du bar européen. Dans l'optique de pouvoir à terme développer des programmes de sélection visant à améliorer le bien-être des téléostéens en élevage, des tests en situation individuelle puis en situation de groupe ont été développés. Le développement de challenges en situation de groupe est essentiel car la mise en place de programmes de sélection requiert un nombre important d'individus.

Variabilité : L'objectif 2 est de déterminer la variabilité interindividuelle des réponses comportementales observées chez différentes populations de bar. L'objectif est de caractériser les traits de personnalité au moyen des tests développés dans l'objectif 1, puis de déterminer l'impact de la sélection dirigée appliquée sur certaines populations (sélection sur la résistance au jeun, phénotype sauvage) sur les réponses comportementales et physiologiques.

Héritabilité : Enfin, l'objectif 3 consiste à évaluer l'héritabilité de traits de personnalité chez le bar européen puis à évaluer les corrélations génétiques existantes entre ces traits et des caractères phénotypiques de production en utilisant une approche familiale.

STRUCTURE DE LA THESE

Cette thèse est structurée en trois parties :

La première partie correspond à la **caractérisation des traits de personnalité** chez le bar et à l'étude de la **variabilité des réponses comportementales** observées. Cette partie regroupe 4 chapitres.

- **Dans le chapitre 1**, une méthode novatrice de suivi individuel a été développée afin de suivre de manière précoce les caractères phénotypiques de jeunes téléostéens. Dans ce chapitre sont étudiés les effets de la méthode de marquage développée sur la croissance et la réponse comportementale suite à un stress lumineux (réponse photomotrice). Une première application est mise en avant, et consiste à déterminer les différences phénotypiques précoces de la croissance liée au sexe chez le bar européen.

- **Dans le chapitre 2**, une étude à long terme visant à déterminer et développer les tests les mieux adaptés à la discrimination de traits de personnalité chez le bar européen a été réalisée. Cette étude a permis un suivi depuis un âge précoce des stratégies comportementales d'adaptation (ou coping styles) en répétant au minimum deux fois chaque test afin de déterminer la cohérence contextuelle et temporelle de ces dernières.

- **Le chapitre 3** vise à déterminer si un test discriminant de la personnalité, réalisé en situation de groupe, peut être prédictif des stratégies comportementales individuelles face à un stress soudain pouvant être assimilé à une attaque de prédateur (test de stimulation mécano- acoustique). Cette étude est présentée sous forme de poster.

- **Le chapitre 4** correspond quant à lui à une étude visant à déterminer si un test discriminant du coping style est prédictif des réponses neurophysiologiques observées après un stress aigu, mais aussi de quantifier les différences au niveau du transcriptome selon le coping style.

La seconde partie correspond à une **analyse des interactions pouvant exister entre la personnalité et les stratégies d'approvisionnement en nourriture**. Elle contient 2 chapitres.

- **Le chapitre 5** correspond à une étude évaluant les liens entre deux traits de personnalité (l'audace et l'exploration) et les stratégies d'approvisionnement en nourriture en conditions expérimentales d'auto-alimentation.

- **Le chapitre 6** correspond à une étude concernant le lien entre la tolérance à l'hypoxie en situation de groupe, et trois axes de la personnalité (l'audace, l'exploration et la sociabilité) déterminés en situation individuelle, tout en évaluant les interactions pouvant exister avec les stratégies d'approvisionnement en nourriture en conditions expérimentales d'auto-alimentation.

La troisième partie est une réflexion sur les **facteurs influençant les traits de personnalité**. Elle est constituée de deux chapitres.

- **Le chapitre 7** cherche à évaluer l'influence d'un facteur environnemental, ici la prévisibilité de l'approvisionnement en nourriture à un âge précoce, sur différents axes de la personnalité (la tolérance à l'hypoxie, l'audace et l'exploration), mais aussi sur l'impact de la domestication (i.e. voir si cet effet environnemental agit différemment sur des lignées divergentes pour leur résistance au jeûne).

- **Le chapitre 8** présente l'utilisation des tests de personnalité les mieux adaptés à notre espèce d'intérêt afin de caractériser un nombre important d'individus à une échelle permettant la mise en place de programmes de sélection. L'héritabilité de deux axes de la personnalité (la tolérance à l'hypoxie et l'audace) et des traits de performances de croissances précoces sont caractérisés en utilisant une approche familiale (analyse sur 500 familles regroupant 1500 individus).

Les différentes questions scientifiques et les méthodes utilisées sont résumées dans le tableau suivant (Tableau 3) :

Tableau 3 : Récapitulatif des expériences et des méthodes utilisées

Chapitre	Objectifs	Facteur testé	Méthode	Traits de personnalité	Origine génétique
1	Développer une méthode de marquage intracoelomique précoce et évaluer son impact sur la croissance et le comportement	Impact du marquage sur la croissance Impact du marquage sur l'activité de nage Croissance différentielle selon le sexe	Suivi individuel de croissance Suivi répété de l'activité de nage par analyse vidéo	-	Standard commercial
2	Caractériser la cohérence des réponses comportementales à travers le temps et les situations Déterminer si les réponses observées sont corrélées aux niveaux de cortisol Déterminer un test discriminant de la personnalité pouvant être appliqué à grande échelle	Détermination de tests discriminants de la personnalité Analyse de la répétabilité des comportements observés Analyse des liens entre comportement et taux de cortisol après un stress Evaluation de l'existence de syndromes comportementaux	Tests de personnalité (individuel et en groupe) Analyses vidéo Suivi comportemental Analyses des réponses physiologiques	Audace Activité Exploration Agressivité Tolérance à l'hypoxie Alimentation en situation isolée	Standard commercial
3	Déterminer si un test en groupe peut être prédictif des réponses individuelles de fuite	Analyse des liens entre tolérance à l'hypoxie et comportement de nage après un stress soudain	Stimulation mécanoacoustique Suivi de l'activité de nage par analyse vidéo Test de personnalité en groupe	Audace Activité Exploration Tolérance à l'hypoxie Récupération après un stress	Lignée croissance
4	Caractériser le coping style et déterminer les réponses physiologiques et neurophysiologiques des individus aux coping styles divergents	Réponses physiologiques et neurophysiologiques suite à un stress aigu Expression différentielle du transcriptome selon le coping style	Caractérisation du coping style avec le test de tolérance à l'hypoxie Prélèvements sanguins Prélèvements des cerveaux et analyses moléculaires	Audace Tolérance à l'hypoxie	Lignée résistante au jeûne
5	Etude des liens existants entre traits de personnalité et stratégie d'approvisionnement en nourriture en condition expérimentale d'autoalimentation	Analyse des liens entre activité de manipulation, exploration et audace	Tests de personnalité (individuel et en groupe) Analyses vidéo Comportement de demande alimentaire	Audace Activité Exploration Tolérance à l'hypoxie	Lignée non sélectionnée
6	Etude du caractère social des individus manipulateurs en condition expérimentale d'auto alimentation	Analyse des liens entre activité de manipulation, sociabilité, exploration, audace et tolérance à l'hypoxie	Tests de personnalité (individuel et en groupe) Analyses vidéo Comportement de demande alimentaire	Sociabilité Audace Activité Exploration Tolérance à l'hypoxie	Lignée non sélectionnée
7	Evaluer un effet de l'environnement sur la personnalité	Prévisibilité de la nourriture Effet sur le comportement de tolérance à l'hypoxie, l'audace et l'exploration	Tests de personnalité (individuel et en groupe) Analyses vidéo Application d'une pression environnementale prévisibilité <i>versus</i> imprévisibilité de la nourriture	Exploration Activité Audace Tolérance à l'hypoxie	Lignée résistance au jeûne
8	Evaluer l'héritabilité de la personnalité	Effet familial sur l'expression des réponses comportementales (héritabilités, corrélations phénotypiques et génotypiques)	Tests de personnalité en groupe Génotypage Analyses de la croissance Analyses des liens entre croissance et personnalité	Audace Activité Tolérance à l'hypoxie	Lignée non sélectionnée

Partie 1:

Caractérisation et variabilité des traits de personnalité.

Article 1: Early individual electronic identification of seabass using RFID microtags: a first example of early phenotyping of sex-related growth.

Aquaculture, Volumes 426-427, 20 April 2014, Pages 165-171.

Marqués

Témoins



Trajectoires de 12 bars juste après
marquage RFID

Sébastien Ferrari

Béatrice Chatain

Xavier Cousin

Didier Leguay

Alain Vergnet

Marie-Odile Vidal

Marc Vandeputte

Marie-Laure Bégout

L'écologie comportementale n'est pas une discipline récente, cependant, l'approche populationnelle a longtemps prévalu sur les études individuelles. Comme nous avons pu le voir dans les sections introductives précédentes, la caractérisation des traits de personnalité requiert des suivis comportementaux répétés, ceci afin d'évaluer la cohérence dans le temps des réponses comportementales et physiologiques dans différents contextes. Il est ainsi rapidement apparu que la dimension individuelle devait être prise en compte, ceci impliquant de suivre de manière individuelle et répétée les animaux. Le marquage des téléostéens peut cependant s'avérer compliqué et lourd à mettre en œuvre. Par ailleurs, les moyens de marquage disponibles ne permettaient pas jusqu'à présent de marquer des individus de tailles relativement petites. Ce dernier point est important car le but de la présente thèse étant de caractériser les traits de personnalité chez le bar, il est apparu nécessaire de suivre les individus depuis leur plus jeune âge. Parallèlement, le bar étant une espèce de fort intérêt commercial, mais aussi dans les prémices de sa domestication, de nombreuses études sont menées sur sa croissance, l'héritabilité de divers traits, ou encore sur le déterminisme de sexe, dont les processus sont encore inconnus à ce jour. Habituellement, les téléostéens sont marqués à un poids moyen de 5 grammes avec des marques conventionnelles, mais récemment, la miniaturisation des technologies a permis de développer de nouveaux types de marques bien plus petites. Ces dernières ont été utilisées pour marquer des fourmis, des abeilles, ou encore des poissons zèbres. Une des premières étapes de mes travaux a donc été d'essayer d'adapter cette nouvelle technologie de marquage à des juvéniles de bars, et ce afin de suivre de nombreux traits phénotypiques précoces. Les études sur le marquage s'intéressent habituellement à la mortalité ou au retard de croissance induit par l'implantation de ces dernières. Cependant, nos objectifs premiers étant de caractériser des réponses comportementales, il est apparu nécessaire d'évaluer l'impact de cette méthode de marquage sur la croissance et la mortalité, mais aussi sur le comportement des individus. Cette étude correspond au premier article de cette thèse, intitulé *Early individual electronic identification of seabass using RFID microtags: a first example of early phenotyping of sex-related growth*, dont voici le résumé en français.

Cette étude a fait l'objet d'une présentation orale à la European Aquaculture Society 2012 à Prague (République tchèque) ainsi qu'aux Journées de la télémétrie 2013 à Pessac (France).

Résumé de l'Article | :

Bien que l'identification électronique individuelle au moyen de PIT tags soit bien établie, celle-ci concerne principalement le marquage d'individus d'une taille supérieure à 60 mm. Comme le marquage électronique est une méthode idéale pour les téléostéens, nous avons utilisé des microtags RFID (tags à identification par ondes radio, d'une taille de 6 mm de longueur pour 1 mm de diamètre, d'un poids moyen de 10 mg) afin de caractériser les individus depuis leur plus jeune âge ainsi qu'au fil de leur développement. Nous avons marqué des bars *Dicentrarchus labrax* (âgés de 105 jours et d'un poids moyen allant de 100 à 1100 mg) puis étudié les effets du marquage intra coelomique sur la moitié d'une population en mesurant différents paramètres incluant la survie, le taux de rétention, la croissance sur plus de 6 mois ainsi que leurs caractéristiques de nage. La mortalité a été suivie quotidiennement et la croissance suivie tout les 21 à 28 jours. Les poissons ont été sexés à la fin de l'expérience. Le comportement natatoire a été suivi après un changement lumineux induisant une réponse photo-motrice à trois reprises (immédiatement après marquage, 21 jours puis 42 jours plus tard). Six mois après le marquage, le taux de survie moyen était de 69 %, les plus petits individus marqués pesaient 197 mg et le succès de lecture des marques était de 79 % pour la classe 300-400 mg après 63 jours. Aucun effet négatif n'a été observé sur la croissance et la plupart de la mortalité induite a été observée dans les premiers 15 jours, avec un pic dans les 5 jours suivant le marquage mais pas particulièrement pour les individus les plus petits. Des différences dans les comportements natatoires ont été observées entre les poissons marqués et non marqués juste après l'implantation de la marque, les individus marqués étant plus actifs que les individus témoins pendant 45 minutes. 21 jours suivant le marquage, les individus marqués nageaient moins que les témoins pendant 1h 45 après avoir été placés dans le dispositif expérimental. Cependant, 45 jours après le marquage, aucune différence n'a été observée. Dans l'ensemble, les résultats suggèrent que cette méthode de marquage constitue un moyen efficace pour suivre individuellement des téléostéens d'une taille moyenne relativement petite, à partir de 400 mg pour 36 mm de longueur. Ce type de marquage précoce représente une méthode intéressante pour le suivi individuel des traits biologiques (*e.g.* la croissance) ainsi que pour des mesures comportementales répétées sur les mêmes individus (*e.g.* études comportementales). Nous avons utilisé cette méthode afin de caractériser pour la première fois les différences de croissance précoce entre males et femelles et mis en avant un gain de masse pour les femelles de 30 % par rapport aux males, différences visibles depuis un âge de 105 jours post éclosion. Ceci confirme le potentiel de cette méthode pour la sélection de traits d'intérêts pouvant mener à des économies considérables pour la recherche en aquaculture.

Early individual electronic identification of seabass using RFID microtags: a first example of early phenotyping of sex-related growth.

Aquaculture, Volumes 426–427, 20 April 2014, Pages 165–171

Sébastien Ferrari^{ab}, Béatrice Chatain^{bc}, Xavier Cousin^{ad}, Didier Leguay^a, Alain Vergnet^c, Marie-Odile Vidal^c, Marc Vandeputte^{ce} & Marie-Laure Bégout^a

Correspondence should be addressed to: Marie.Laure.Begout@ifremer.fr

- a) Ifremer, Place Gaby Coll, BP 7, 17137 L'Houmeau, France
- b) UMR 110 INTREPID, Ifremer Cirad, 34000 Montpellier, France
- c) Ifremer, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-Les-Flots, France
- d) INRA LPGP, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes, France
- e) INRA UMR 1313 GABI, F-78350 Jouy-en-Josas, France

Abstract

Although individual electronic tagging using PIT (Passive Integrated Transponder) tags is well established, it is mainly used for fish > 60 mm in length. Since electronic tagging is an ideal identification method, we used RFID (Radio Frequency Identification) microtags (6 mm in length, 1 mm in diameter, 10 mg in mass) to characterize individual fish from the early stages of their development and throughout their lifecycles. We used seabass, *Dicentrarchus labrax*, (105 day-old fish weighing between 100 and 1100 mg) and studied the effects of intra-coelomic tagging in half the population using different endpoints including survival and tag reading, growth over 6 months and swimming responses. Dead fish were counted daily, biometric data were collected at three to four week intervals and fish were sexed at the end of the experiment. Behavioral swimming responses following a sudden dark challenge were evaluated after the first three biometric measurements (immediately after tagging, and then 3 and 6 weeks later). After 5 months, mean survival was 69 %, the smallest surviving fish weighed 197 mg at tagging, and success in tag reading was 79 % for the size class 300-400 mg after 63 days. No negative effects were observed on growth and most deaths occurred within the first two weeks after tagging with a first peak after 5 days but that did not particularly affect the smallest individuals. Differences in swimming responses were detected between tagged fish and untagged controls immediately after the surgical procedure with tagged fish swimming more than controls for 45 minutes. However, after 3 weeks, the tagged fish swam less than the untagged controls after being placed in the observation tank for 1h45. Six weeks post-tagging, no further differences were observed. Overall, results suggested that the tagging method was suitable for fish as small as 400 mg and 36 mm in total length. This type of early tagging method is invaluable for the longitudinal monitoring of individual biological traits (*e.g.* growth) or for repeated assays with the same individual at distinct time points (*e.g.* behavior studies). We used it for a first evaluation of early growth differentiation between sexes and demonstrated a 31% mass gain difference in females that was visible as soon as the fish reached 105 days old. This confirms the potential of the method for the selection of early-expressed character traits which could lead to rearing cost savings for the aquaculture research field.

Key words: Tagging effects, swimming behavior, sexual dimorphism, *Dicentrarchus labrax*.



1. Introduction

The ability to recognize individuals within a large population of similar-sized congeners has long been regarded as useful, notably for fisheries research (*e.g.*, growth rate estimations), ecological investigations (*e.g.*, migration) and population dynamics studies. It is also useful in experiments when one needs to identify specific lines that have no external phenotypes (*e.g.*, mutant or transgenic lines) or to monitor the same individuals over a long period of time (*e.g.*, multiple challenges in behavioral analysis, monitoring of individual growth or spawning (Cousin et al., 2012). Passive Integrated Transponder (PIT) tagging (Prentice et al., 1984) is suitable for the identification of individuals and does not entail repeated handling. It has become a widely used tool for the identification of large numbers of individuals (Gibbons and Andrews, 2004). The tags also enable a degree of remote monitoring of fish passage or presence at a key sites (Armstrong et al., 1996; Brannas and Alanara, 1993; 1994 ; Prentice et al. 1990a), of risk-taking behavior (Millot et al., 2009b), of hypoxia tolerance (Laursen et al., 2011a) and of a lot of other behavioral traits. In aquaculture, fish are usually tagged at an average mass of 10 g with PIT tags being implanted in the dorsal musculature or coelomic cavities of the fish. The PIT tag represents a small percentage of the body mass of the fish and has very little effect on their physiology but is not suitable for fish below 60 mm (Baras et al., 2000).

However, because many biological phenomena emerge early in life or depend intimately on the conditions experienced at the early stages of life, it is often necessary and important to individually tag fish as young as possible (Baras et al., 1999). Not many effective solutions are available for smaller animals and the situation is further complicated for fish due to the medium in which they live and the presence of skin/scales, which makes the use of external tagging methods such as conventional painting difficult. Other non electronic tagging methods exist such as coded wire tags (CWTs) and visible implant elastomer (VIE), they have rarely been used in fish below 60 mm (Champigneulle et al. 1987) and they necessitate extensive manipulation to be read (Brennan et al. 2005; Bégout et al. 2012).

The RFID (Radio Frequency Identification) electronic microtag, which has been used to document behavior in insects (ants, (Moreau et al., 2011) and bees, (Decourtye et al., 2011) has very recently been developed. The glass microtags, which are smaller than ordinary PIT tags, appear to be the best way to tag individuals at an early size/age, as successfully shown by (Cousin et al., 2012) in zebrafish. Glass microtags have a very low mass (~ 10 mg), an unlimited lifetime, can be associated with billions of individual codes, and can be applied to a broad sample of individuals. As reading uses a frequency in the MHz range (13.56 MHz), they can be coupled with a conventional PIT tag (in kHz) at a later stage without interference.

However, physiological and behavioral responses to a given method of tagging may vary depending on the species (Summerfelt and Smith, 1990; Winter, 1983) and studies on

the effect of tagging are always strongly encouraged (Baras et al., 2000). New types of tags and fish species and/or development stages require validation before being used and detection and application methods should minimize or eliminate biases that may arise from changes in fish behavior, mortality, or biological functions. However, only a few studies have documented the feasibility of implementation of PIT tags in the coelomic cavity of small juveniles and they mostly involved salmonids (Brannas and Alanara, 1993 ; Ombredanne et al., 1998; Peterson et al., 1994; Prentice et al. 1990b; Navarro et al., 2006). There is also no evidence that standard tagging procedures, which rely on the use of syringe injectors (Bergensen et. al 1994; Prentice et al. 1990b), are suitable for small fish juveniles (smaller than 1 g in mean body mass). Moreover, few studies have documented the relationship between tagging procedures and changes in fish behavior including swimming performances (Cousin et al., 2012).

The European seabass (*Dicentrarchus labrax*, L.) is a high commercial value marine teleost. Its average aquaculture production worldwide from 2007 to nowadays is about 125.000 tons year⁻¹ (Tveteras and Nystoyl, 2011). Although the European seabass is a key species for the Mediterranean aquaculture industry, its production is associated with a relevant drawback: the progeny sex ratio is highly skewed to males (75-95 %, reviewed in Vandeputte et al., 2007) whereas males present earlier sexual maturation and lower growth (about 20-30 %) compared to females. The male-biased sex ratio of cultured populations is therefore a serious management issue for producers which require solving. Although the sex determinism system in European seabass is to a large extent unknown (Piferrer et al., 2005), two main features may be distinguished, *i.e.* a lack of sex chromosomes and environmental sex determinism (ESD). Environmental sex determinism implies that the sex of a specimen is not fixed at conception but is influenced by environmental conditions during its early life (Vandeputte et al, 2007). Sexual differentiation is reached after a long period of time, *i.e.* about 130 days post-fertilization (dpf) and after, as has been demonstrated by (Saillant et al., 2003). This labile period therefore includes the early stage during which specimens develop their individual growth trajectories and gaining knowledge on this sensitive phase is of utmost importance. Furthermore, in the context of growing awareness of fish welfare associated with the development of genetic selection, one can imagine that methods enabling early behavioral or physiological phenotypic selection will be highly sought after.

The work described in this paper was carried out in two steps: the first experiment was a pilot study to evaluate the suitability of coelomic tagging with RFID glass microtag (Nonatec®) on 50 tagged fish with mean body weight of 840 ± 20 mg over 118 days. The purpose of the second experiment was to study the effects of tagging with RFID glass microtag over 184 days but starting on smallest fish (mean body weight of 590 ± 22 mg) and with higher numbers (N=188 tagged fish). For the second experiment, besides growth, we also monitored the effect of tagging on baseline locomotion and photo motor responses to sudden dark challenge in tagged juvenile seabass compared to untagged controls. We finally



used this experiment to gain knowledge on early growth trajectory in seabass juveniles in relation to sex.

2. Equipment and method

2.1. Origin of the fish and experimental structure:

Experiment 1 (Exp. 1)

Juvenile European seabass were hatched and reared at Aquastream [Morbihan, Ploemeur, France]. They were 87 days when they arrived at our facility and they were allowed to recover from transport during 9 days. They were then reared in a 450 l tank according to seabass rearing standard (Chatain 1994) using a recirculating system with a flow rate of 4 m³ per hour and water was renewed at a rate of 10 % per day. The water temperature was maintained at 20.2 ± 1.5°C and oxygenation at above 80 % saturation in the water-outlet; salinity was 35.3 ± 3.3. The light regime was 13:11 L/D (light switched on at 09:00) with gradual twilight transition periods lasting 30 minutes. The fish were handfed upon arrival until the end of the experiment (commercial diet Le Gouessant (France) containing 45 % crude protein and 20 % lipids according to the manufacturer). Pellet size was gradually increased according to fish body mass. Fish were tagged when they were 96 days old with a mean body mass of 840 ± 20 mg (mean ± SD) for a min-max range in total length of 31 mm-41 mm. The experiment took place over 118 days with 100 fish (50 tagged / 50 untagged controls) kept in one common garden tank. The aim of this experiment was to assess the feasibility of tagging juvenile seabass from 96 dph.

Experiment 2 (Exp. 2)

Juvenile European seabass were hatched and reared at the aquaculture experimental research station of Ifremer in Palavas-les-Flots (Hérault, France). The fish were 105 days old at the start of the experiment (*i.e.* at tagging) and weighed between 100 and 1100 mg (with a mean body mass of 590 ± 22 mg (mean ± SD) for a min-max range in total length of 27 – 53 mm. They were reared according to seabass rearing standard (Chatain 1994) in a 1 m³ circular tank equipped with a flow-through system and supplied with seawater. The flow rate in the tanks was 1.6 m³ per hour, the temperature of the water was maintained at 22.4 ± 2.1°C, oxygenation was above 80 % of saturation in the water-outlet, and salinity was 36.3 ± 0.3. The light regime was 15 L/D (light switched on at 09:00). The fish were handfed during their early life and then were fed using self-feeders from 90 dph with the same commercial diet as described above. Pellet size was gradually increased according to the body mass of the fish. The experiment took place over 184 days with 389 fish (188 tagged / 201 untagged controls) kept in one common garden tank. The aim of this experiment was to assess tagging effects on growth, mortality and behavior of seabass tagged at 105 dph; and to provide the first insights on early individual phenotypic differentiation of sex-related growth in seabass.

2.2. Anesthesia and tagging procedure

The two experiments were conducted following approval of the Animal Care Committee of France under the official license of M.-L. Bégout (17-010). A 10 % stock solution of Ethyl-*p*-aminobenzoate (Benzocaine, E1501, Sigma, St Louis, MO, USA) was prepared by dissolving 100 g of Benzocaine in 1 l of 100 % ethanol. The anesthetic solution consisted of 325 µl of stock solution dissolved in 1 l of seawater. For tagging procedure, see Cousin et al. 2012 (JEB071829 Supplementary Material for a video). Briefly, intra-coelomic implantation was performed by piercing a hole in the abdominal cavity on the left side of the fish using a 22 gauge needle. Care was taken to pierce only the body wall muscle and not to insert the needle too far into the cavity so as to avoid damaging any organs. A microtag (Lutronics, Nonatec RFID, Lutronic International, Rodange, Luxembourg, www.nonatec.net; size 1 mm x 6 mm; mass 10 mg; frequency: 13.56 MHz) was then transferred from the 70 % ethanol to sterile saline solution (9 g l⁻¹ NaCl) for rinsing, picked up with Dumont No. 3 forceps, and introduced into the abdominal cavity through the hole made earlier, and pushed in until it was fully inserted. The whole procedure was routinely performed within 30 s, and care was taken to limit the time the fish were kept out of the water to improve experimental success (tagging was done on batches of about 10 fish to minimize anesthesia duration to less than 5-6 min). The fish were then transferred to a tank of clean sea water for recovery from anesthesia and handling and allowed to rest for 10 - 15 minutes before being returned to their rearing tank. Control fish received the same treatment (anesthesia and biometric measurements out of water) except for the hole and the tag insertion. All control and microtagged fish were tagged with conventional PIT tags when they reached 164 dph in Exp. 1 and 197 dph in Exp.2. This was done to prevent loss of their identity and to enable correct sex assignment in Exp. 2 because we anticipated a lower reading success of microtags due to an important fish growth combined with a low detection range (1 cm).

2.3. Survival, growth monitoring and early sex effects

Biometric measurements were made at 96 dph, 122 dph, 143 dph, 164 dph, 185 dph, 206 dph and 258 dph for Exp. 1 and at 105 dph, 125 dph, 147 dph, 169 dph, 197 dph, 226 dph, 273 dph and 289 dph for Exp. 2. For each biometric measurement, the fish were fasted the preceding day, anesthetized as described above, measured for mass (to the nearest mg) and standard length (to the nearest mm) and then placed in sea water for recovering before being returned to their tank. Note that in Exp. 2, length measurements for untagged control were not done at 105 dph. During the biometric measurements, the microtags were read using the RFID reader connected to a computer, and the corresponding masses and lengths were recorded on a spreadsheet. Occasional microtag failure or loss was noted and fish death and/or tag loss were monitored daily throughout the experiment. The Specific Growth Rate (SGR) was calculated as: $SGR (\% \text{ body mass per day}) = 100 (\ln BM_f - \ln BM_i) \times t^{-1}$, where BM_f and BM_i are the final and the initial body masses (BM, g) respectively, and t the total number of days. To back-evaluate an early sex effect on growth, all fish from



Exp. 2 were killed with an overdose of anesthetic at the end of experiment (at 289 dph) and phenotypic sex was determined according to the method described by Barnabé (1976). This method uses a macroscopic examination of gonads and defines 7 stages of gonad maturity. In the present experiment we observed stages 1 to 3 (with mainly stages 2-3): stage 1 corresponded to undetermined individuals when gonads are both threadlike; stage 2 corresponded to a 0.5 cm round ovary with a creamy color and no ovocytes could be distinguished, testes showed a typical triangular section and were transparent; finally stage 3 corresponded to a 1 cm granular round ovary with a creamy color and unseparated polyhedral ovocytes could be distinguished, testes color changed to pinkish grey.

2.4. Effect on swimming behavior (Exp. 2):

Stress response to tagging processes is rarely systematically assessed. Measurement of post-tagging swimming performance can be used as a surrogate for a battery of physiological tests. To evaluate the possible effects of the tagging procedure on swimming behavior, fish from both groups (untagged controls and tagged fish) were therefore subjected to a specific test designed to measure their swimming activity over 3 hours with an exposure to a sudden dark challenge which represents a mildly stressful situation in which a novel stimulus triggers the expression of characteristic avoidance behaviors in several species (similar protocol to that of Benhaïm et al. 2013). The fish were allowed to acclimatize for 5 min before the start of video recording into the arenas setup composed of 12 x 3 l tanks (AquaBox® by Aqua Schwarz GmbH, Göttingen, Germany; 24.5 x 15 x 13.5 cm), isolated from one another by opaque walls, filled with sea water, with each tank receiving a single fish. The arenas were filmed for 180 min: 120 min in the light, 15 min in darkness and then another 45 min in the light using Ethovision® XT tracking software (Noldus, The Netherlands). For the dark period, the light was turned off abruptly, resulting in sudden darkness, and then switched back on with a timer. The whole setup was placed on an infrared floor (IR floor 1 x 1 m, Noldus, The Netherlands) to avoid the reflection of light and to allow filming during dark periods.

Altogether, 72 fish (36 untagged controls, 36 tagged fish) were filmed at 105 dph (at tagging day), 125 dph (3 weeks after) and 147 dph (6 weeks after); for 6 x 3 hours sessions each recorded: 6 untagged controls and 6 tagged fish. The same individuals (21 of the 36 tagged fish) were filmed at the three ages. The two variables of interest were distance travelled and angular velocity. For each individual, distance travelled was divided by fish body length (BL in cm) to standardized values and avoid bias due to variation in fish size while angular velocity ($^{\circ} s^{-1}$) was used as an indicator of the trajectory (in terms of angle turned per time unit) and to quantify swimming path complexity. Briefly, angular velocity is expressed in $^{\circ} s^{-1}$ and represents the angle turned in one second. A fish with a straight trajectory will have an angular velocity of $0^{\circ} s^{-1}$ whereas a fish turning 90° right then 60° left in two seconds will have an angular velocity of $75^{\circ} s^{-1}$ (150° in 2 seconds): the higher the angular velocity, the more complex the trajectory.

2.5. Data Analyses

The data were analyzed for normality using the Shapiro-Wilk test, and for homoscedasticity using Bartlett's test. When normality and homoscedasticity were respected, t-tests and repeated measures analysis of variance (RM-ANOVA) were performed. In case of non-normality and/or non-homoscedasticity after log or square root transformation, the Mann-Whitney-U tests were used (see details for each experiment hereafter).

For Exp. 1, mass and SGR of tagged fish and untagged controls were compared using Student's t-test or Mann-Whitney test and survival analysis was conducted using Log-rank Mantel-Cox test.

For Exp. 2, due to the important variability in size, the tagged fish were divided into ten classes (in mg) for statistical analyses, *i.e.* [100; 200[; [200; 300[; [300; 400[; [400; 500[; [500; 600[; [600; 700[; [700; 800[; [800; 900[; [900; 1000[; [1000; >1100[. Mass, length and SGR values were compared using RM-ANOVA with mass classes at tagging used as a fixed factor (note that lengths were not available for the controls before 125 dph). Survival rates of untagged controls and tagged fish were compared using the Log-rank Mantel-Cox test. For the swimming behavior study, distance travelled and angular velocity were summed or averaged respectively per 15 minutes. For the statistical analyses, the 3 hours sessions were divided into 12 periods of 15 minutes (1 to 12) to allow comparison of fish swimming activity levels and path complexity per period between tagged fish and untagged controls. RM-ANOVA was used to compare distance travelled and angular velocity between treatment – tagged and untagged control) with periods as fixed factors to take into account time dependence between periods followed by and Newman-Keuls post-hoc tests. For the tagged fish, we were able to reassign the sex of 21 fish at 105 dph, 23 fish at 125 dph, and 25 fish at 147dph (out of 36), and the effect of sex on distance travelled and angular velocity variables was analyzed using RM-ANOVA with periods and sex as a fixed factor. Two fish (one tagged and one untagged control) were removed from the behavioral analyses at 105 dph due to abnormal values (detection problem during recording). Fish from both groups (tagged and untagged control) were tested for homogeneity of mass and body length using the Mann-Whitney test before comparing their swimming behavior.

For all tests, the significant threshold was $p < 0.05$ and analyses were performed using R™ freeware (<http://www.r-project.org>; <http://cran.r-project.org>) and Statistica® (Statsoft, Tulsa, OK, USA).



3. Results

3.1. Survival, growth, tag retention & early sex-related differences:

Experiment 1

The initial body mass of the tagged (840 ± 20 mg, min-max 497 - 1260 mg) and untagged control fish ($1010 \text{ mg} \pm 30$ mg, min-max 463 – 1630 mg) was significantly different (t-test, $p < 0.001$, Table 1) but this difference was due to the fact control fish were actually weighed and measured 5 days later (at 101 dph) for technical reason. For the rest of the experiment, no growth differences were found between untagged controls and tagged fish. The initial tag to body mass ratio was 2.2 % for the smallest tagged fish and 0.96 % for the heavier one. Tag reading failure was 10 % between 96 dph and 122 dph (Table 1). Only four fish died on the day of tagging and were excluded from downstream analyses since their death were due to the lack of practice of the surgeon. No differences in survival rate were observed between tagged and untagged fish (96 % each) and survival curves were identical ($\text{Chi}^2 = 0.023$, $p = 0.878$).

Table 1 : Comparison of body mass (g), standard length (mm), SGR, Tag to fish mass ratio, Tag loss and mortality rate (%) between tagged and untagged controls fish in experiment 1. Characters in bold indicate significant differences between tagged and untagged controls (t-test, $\alpha = 0.05$).

	Tagged fish	Untagged controls
Initial number (N)	50	50
Body mass (BM, mean \pm SD, g)		
96 dph	0.84 ± 0.02	-
101 dph	-	1.01 ± 0.03
206 dph	9.57 ± 0.34	10.10 ± 0.33
258 dph	11.85 ± 0.23	12.99 ± 0.22
Standard length (SL, mean \pm SD, mm)		
96 dph	36.14 ± 0.33	-
101 dph	-	38.08 ± 0.41
206 dph	82.05 ± 0.92	82.02 ± 1.10
258 dph	87.29 ± 0.15	97.74 ± 0.79
Specific Growth Rate (mean, %)		
96 dph - 122 dph	0.69	0.67
206 dph - 258 dph	2.36	2.45
Tag ratio (mean % BM)		
96 dph - 122 dph	1.19	-
122 dph - 143 dph	0.5	-
143 dph - 164 dph	0.18	-
164 dph - 206 dph	0.15	-
206 dph - 258 dph	0.06	-
Tag loss and/or reading failure (% of total number at last biometry)		
96 dph - 122 dph	10	-
122 dph - 143 dph	4	-
143 dph - 164 dph	2	-
164 dph - 206 dph	5	-
206 dph - 258 dph	0	-
Mortality (%)		
258 dph	8	8

Experiment 2

In this experiment, the initial tag to body mass ratio ranged from 0.65 % to 4.01 %. For the tagged fish, mean survival rate over 6 months was 69 % and ranged from 45.0 % to 87.5 % according to the initial body mass of the fish. A significant effect of body mass at tagging on survival rate was observed ($F_{(9, 188)} = 28.37$, $p < 0.001$): the highest survival rate was found for the [1000; >1100[class (Table 2). The threshold value of 73.7 % survival was for the size class 400-500 mg body mass at tagging along with a 78.9 % microtag reading success for this size class at 169 dph when fish mean body mass was 11.7 g (Table 2). Overall fish, microtag reading success was between 67.2% (lowest value observed at 197 dph) and 100% observed at 105, 226, 273 and 289 dph; intermediates values were 85.9% at 125 dph, 97.9% at 147 dph and depending on class sizes between 42.9 - 88.9 % at 169 dph. Tag loss was difficult to distinguish from reading failure and from fish death because it was difficult to find the tags in the large tank. Most fish mortality however occurred only during the first two weeks after tag insertion (Table 3) with a peak at 5 days post-tagging. The mortality rate was significantly lower in the control group compared to the tagged group, mostly from 105 dph to 147 dph (Lor rank (Mantel-Cox); $\chi^2 = 30.79$, $p < 0.001$, Table 3), but no differences in body mass were observed between the tagged fish and the controls (between 105 dph and 289 dph, RM-ANOVA; $F_{(7, 286)} = 0.945$, $p = 0.47$; Figure 1A) at any of the biometric measurement points. Similarly, no differences were observed between tagged and untagged controls fish for body length (between 147 dph and 289 dph, RM-ANOVA $F_{(6, 304)} = 0.700$; $p = 0.65$) or for SGR (RM-ANOVA; $F_{(6, 286)} = 0.610$; $p = 0.72$). For tagged fish only, no SGR difference was found in relation to body mass class at tagging (RM-ANOVA $F_{(54, 468)} = 1.26$, $p = 0.10$). When fish were euthanized for sex determination, microtags were retrieved in the body cavity either embedded in fat tissue or free. No inflammation was observed.

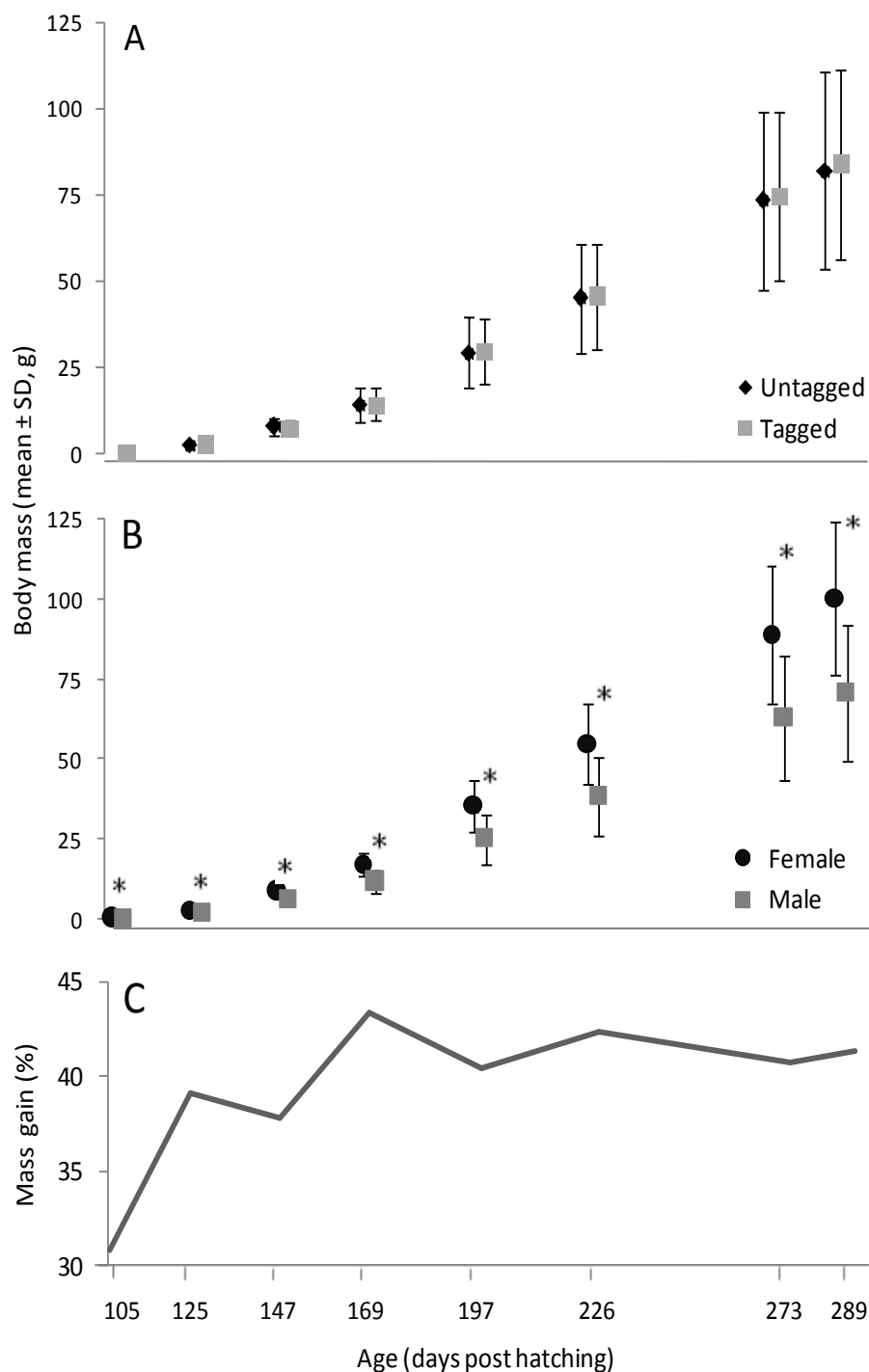


Figure 1 : **A** - Growth monitoring (body mass, mean \pm SD, in g) of untagged controls (black symbol) and tagged fish (grey symbol) over 6 months in experiment 2. No differences were found for the entire duration of the experiment; **B** - Comparison of body mass (g, mean \pm SD) according to sex (black symbols = females, grey symbol = males) of tagged fish. **C** - Mass gain (%) of females compared to males (%). Significant differences are showed with * ($p < 0.05$).

Table 2 : General table of fish number, body mass (BM, mg), tag to fish mass ratio (%), survival rates (%), tag reading rate at 169 dph, percentage of fish per sex (%), percentage of undetermined sex (%), and Specific Growth Rates between biometrics (% of BM.d-1) according to sex of tagged fish and initial body mass classes at tagging in experiment 2.

Mass Class (mg)	[100 ; 200[[200 ; 300[[300 ; 400[[400 ; 500[[500 ; 600[[600 ; 700[[700 ; 800[[800 ; 900[[900 ; 1000[[1000 ; >1100[
Initial number (N)	2		20		15		19		50		28		18		16		12		8	
Mean BM (all sex, mg)	175		262		347		456		544		658		747		849		934		1080	
Mean tag ratio (% of BM)	4		2.7		2		1.5		1.3		1.1		0.9		0.8		0.7		0.6	
Survival rate (% of total)	50		45		46.7		73.7		76		78.6		77.8		75		83.3		87.5	
Reading rate at 169 dph	50		42.9		60		78.9		72		85.7		88.9		75		83.3		87.5	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Percentage per sex	0	0	88.9	11.1	85.7	0	71.4	14.3	52.6	44.7	31.8	68.2	35.7	50	16.7	83.3	50	50	14.3	85.7
Percentage undetermined	100		0		14.3		14.3		2.6		0		14.3		0		0		0	
Specific Growth Rate																				
105 dph – 125 dph	7.2		7.6	11.4	7.5	-	6.8	7.7	6.9	7.2	6.4	7	5.2	6.6	4.6	6.7	5.9	6.4	7.2	6.5
105 dph – 289 dph	2.8		2.9	3.3	2.9	-	2.6	2.9	2.6	2.8	2.6	2.7	2.6	2.6	2.3	2.6	2.5	2.6	2.6	2.6



Table 3 : Number of dead fish and mortality rates (%) of the total number of tagged and untagged control fish between each biometric measurements for experiment 2.

	Tagged	Untagged control
Initial number	188	201
Interval between biometry		
105 dph - 125 dph	35 (18.6%)	0
125 dph - 147 dph	4 (2.1%)	0
147 dph - 169 dph	6 (3.2%)	0
169 dph - 197 dph	5 (2.7%)	11 (5.6%)
197 dph - 226 dph	1 (0.5%)	1 (0.5%)
226 dph - 273 dph	3 (1.6%)	4 (2.1%)
273 dph - 289 dph	0	0
Total mortality (Running sum)	54	16

Concerning sexual dimorphism, mass differences were observed between males and females (RM-ANOVA $F_{(16, 192)} = 3.64$; $p < 0.001$) at each biometric measurement time (Figure 1B), but no SGR differences (RM-ANOVA $F_{(14, 194)} = 0.845$; $p = 0.62$). Retrospectively, we estimated that at 105 dph (1024 degree days above 10°C), the females were already 31 % heavier than males in this population. This difference increased with time, reaching a maximum value of 44 % and then stabilizing at around 40 % after 197 dph (3048 degree days above 10°C, Figure 1C).

3.2. Tagging effects on swimming behavior and photomotor response to a light/dark change

For each behavioral test, fish from both groups (tagged and untagged) were tested to evaluate differences in mass and length using the Mann-Whitney test and no differences were found at any of the sessions. At 105 dph, when the fish were 590 ± 220 mg in mean mass and 38.5 ± 5 mm in mean total length, total distances travelled per 15-min period were compared (Figure 2A), the mean distance travelled for all individuals was 8547 ± 1404 BL.15 min⁻¹ (i.e. 9.5 BL.s⁻¹) and a tagging effect was observed (RM-ANOVA, $F_{(12, 57)} = 2.77$, $p = 0.005$): the tagged fish swam more than the controls during the first 45 minutes post-surgery (Period 1 to Period 3). After this period, and during the light/dark challenge, no further differences in distance travelled were observed between the tagged and control fish, but both groups showed a slight increase in activity during the dark period. A treatment effect was also found for angular velocity (data not shown, range for tagged fish [364.93 - 671.53 °.s⁻¹], mean \pm SEM 504.55 ± 109.54 °.s⁻¹; and for untagged controls [566.65 - 615.99 °.s⁻¹], mean \pm SEM 566.65 ± 25.02 °.s⁻¹; RM-ANOVA $F_{(12, 57)} = 2.76$, $p = 0.005$): the

tagged fish presented a lower angular velocity reflecting a less complex swimming path during the first five 15-min periods (Period 1 to Period 5), *i.e.* 75 min after being placed in the observation tank. After this session, no further differences in angular velocity were observed.

At 125 dph, 3 weeks after tagging, total distances travelled per 15-min period were compared (Figure 2B) with fish mean mass equal to 2490 ± 860 mg and mean total length equal to 61.3 ± 6.8 mm. Differences were observed (RM-ANOVA, $F_{(12, 59)} = 2.44$, $p = 0.012$): the tagged fish swam less than the controls during the first seven 15-min periods (Period 1 to Period 7, except during Period 5), *i.e.* for 105 min after being placed in the observation tanks. After this acclimatization period and during the light/dark challenge, no further differences were observed. The mean distance travelled for all individuals was 4466 ± 847 BL.15 min⁻¹ (*i.e.* 4.9 BL.s⁻¹), *i.e.* two times less than during the first session.

At 147 dph, 6 weeks after tagging, no difference was observed between tagged and control fish for any of the periods, for distance travelled and angular velocity, respectively (then, the mean mass of the fish was 7780 ± 2530 mg and mean total length was 88 ± 9.3 mm). The mean distance travelled for all individuals was 3913 ± 282 BL.15 min⁻¹ (*i.e.* 4.3 BL.s⁻¹), like at 125 dph.

No sex effect was found for distance travelled at 105 dph, 125 dph and 147 dph (RM ANOVA: $F_{(12, 7)} = 0.105$; $p = 0.466$; $F_{(12, 12)} = 1.592$; $p = 0.216$; $F_{(12, 10)} = 0.363$; $p = 0.950$, respectively).

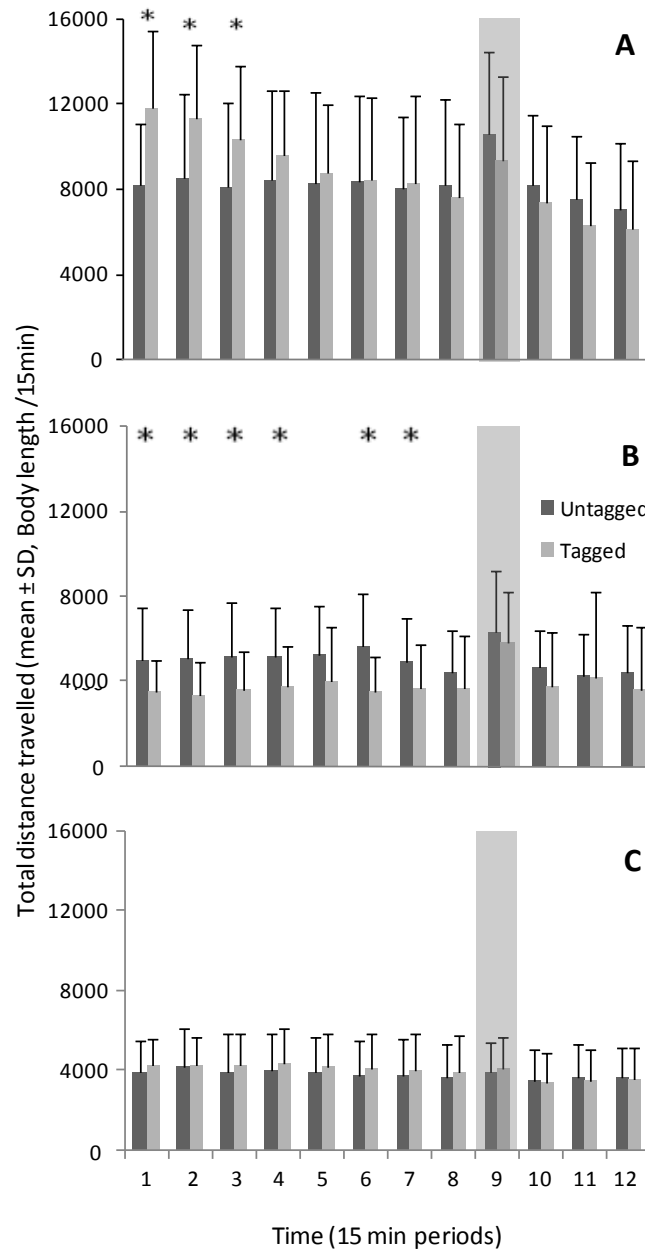


Figure 2 : Comparison of total distances travelled (Body length per 15 min, mean \pm SEM) between untagged controls (black column) and tagged fish (grey column) for each 15-min period of the whole experiment (Period 1 to Period 12). A – at 105 dph, just after tagging; B – at 125 dph, 3 weeks post-tagging and C – at 147 dph, 6 weeks post-tagging. Significant differences are showed with * ($p < 0.05$). Columns highlighted by grey surface in period 9 represent the dark period of behavioral test.

4. Discussion

The options of researchers are limited for the identification and monitoring of small-bodied fish. External tagging with painting or visible alpha numeric tags proves difficult when large numbers of fish are used as is necessary in a selective breeding program, for example. The same applies to behavioral experiments where external tagging could influence social interactions. Internal electronic tagging is the ideal solution but so far, the method has been limited to fish above 60 mm in length and 1670 mg in mass (Baras et al., 2000), or with a fork length of 57 mm (Acolas et al., 2007). Technological developments and tag miniaturization have only very recently enabled fish to be followed from a very early stage of their life cycle using intra-coelomic implantation of glass microtags, as described by Cousin et al. (2012) and in this paper.

The microtags used in this study were very effective for the tagging and identification of small juveniles from 400 mg in mass and 36 mm in standard length, enabling them to be followed throughout their growth. For fish weighing a mean of 600-800 mg, survival rates of 78.6 % can be expected about one month after tagging with no effect on body mass and SGR, which is comparable to the results obtained on *Salmo trutta* by Acolas et al. (2007) or on non-salmonids by Ficke et al. (2011), although both in a larger size range (15-20 g). Fish in the mass class 400-500 mg had a 73.7 % survival rate, while those weighing less than 400 mg were more affected, probably because tag insertion was proportionally more traumatic for them since their coelomic cavity is shorter. Nevertheless, even if the survival rate for the last mass class was low (50 %) in this experiment, the method allowed tagging of fish with a total length of 27 mm and a body mass of 197 mg. We however recommend using this method for microtagging fish from 400 mg and 36 mm in total length.

This study also established that the early growth trajectory of the fish was significantly different for males and females as from 105 days (1024 degree days above 10°C) with a 31 % difference in mass in favor of the females. The differential growth in body mass was even reinforced over time until the end of our experiment, reaching 44% in 289 day-old fish, *i.e.* 9-10 months. These findings are consistent with earlier observations (Saillant et al. 2001; Coban et al. 2011) showing sexual mass dimorphism in favor of females in seabass species. However, the previous works started longitudinal growth monitoring at 10 months of age and indicated a 67% mass gain (Saillant et al. 2001). They also showed that the size advantage of females subsequently decreased during the second growing season to stabilize at around 20–30%. The present experiment hereby confirms that growth difference is mainly due to phenotypic sex, and that it occurs much earlier than previously concluded (Saillant et al. 2001).

Most studies investigating tagging effects monitor only growth and mortality whereas behavior is an integrative component reflecting adaptability to the tagging procedure. The number of publications on behavioral studies has increased in the past decade, and a suitable means of tagging is required to follow fish behavior. One requirement is that tag



application should be associated with minimal or no stress to the fish, so the need for careful and systematic evaluation of tagging effects is essential (Bridger and Booth, 2003). The tag must not affect spontaneous behavior or increase vulnerability to predators when dealing with wild fish. In our study, distances travelled and angular velocities were monitored and revealed some behavioral differences in baseline activities between tagged fish and untagged controls just after tagging: tagged fish showed higher transient (45 min) swimming activity than the untagged controls; the hyperactivity could be specifically due to the surgery process and added tag mass since handling and anesthesia were also applied to the controls. After a short acclimatisation period, no further differences were observed between the two groups of fish, even during the light/dark changes which did not elicit differential responses according to fish treatment as one would expect in the case of a serious affect. These results are consistent with those of a previous study that investigated the effects of tagging on the swimming activity of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*), and which showed that handling, attachment surgery and tag presence did not seem to critically affect swimming activity levels (Bégout Anras et al., 1998). Similar conclusions were reached with sea bream (*Sparus aurata*), although transient higher cortisol levels were observed in tagged fish (Montoya et al. 2012). The seabass reacted to the photo motor challenge with hyperactivity, but both groups showed the same ability to recover from the sudden dark challenge, resuming earlier activity levels within the following period. Swimming path complexity differed between the groups just after tagging and was characterized by a lower angular velocity mean in tagged fish. This lower complexity corresponded to circular trajectories, illustrating stereotypic behavior (abnormal repetitive behavior with no apparent goal or function, Garner 2005; Turner 1997), and likely reflecting anxiety of tagged fish just after tagging. At three weeks post-tagging, tagged fish showed less activity for 1h45min after the start of the behavioral test. The reason why tagged fish showed lower activity than untagged fish only at the beginning of the second behavioral test is not clear. Persistence of a tagging effect should have led the fish to demonstrate higher activity (Bégout Anras et al, 1998) throughout the experiment and particularly during the stress period. Furthermore, it is interesting to note that activity levels decreased significantly and was divided by two between the initial session and 3 weeks later. This could either reflect the acclimatisation of the fish to the observation tanks or be a consequence of the relative size of the fish to the size of the observation tanks, or a combination of both factors. Both body size and age (previous experience) could influence activity, but also the response to the transfer in the behavior observation tanks. Such an arena size effect was noted during similar tests conducted with zebrafish larvae (Padilla et al., 2011) which showed that the higher swimming activity was observed in the larger arena. Six weeks post-tagging, no differences were found in any variables of interest.

In conclusion, these results highlight the need of an acclimatization period (3 to 6 weeks) for small seabass juveniles to fully recover from intra-coelomic tagging, but an acclimatisation period is also required before the carrying out of behavioral tests to avoid

bias. Similar conclusions were reached with small-bodied zebra fish at two months post-tagging (Cousin et al. 2012).

This study is the first to our knowledge to report the effects of tagging on growth and behavior on juvenile seabass from the smallest size class mean mass of 170 ± 30 mg (150 - 197 mg) and mean length of 32.5 ± 7.8 mm (27 – 38 mm) and for such an early and long time (184 days, starting at 105 dph). It is also the first to show such early, individual sex-related body mass differences. Using this tagging method, we showed that seabass females were 31 % heavier than males as from 105 days. Further research is needed to uncover the mechanisms responsible for these differences. The micro-tagging method could be further developed to improve the non-invasive longitudinal monitoring of individual traits. The method could be used in behavioral studies, which must be carried out from as young as possible to characterize individual variability and consistency in behavior, or it could be used to identify productivity traits which could help selection programs and greatly reduce hatchery costs by fish being screened for different traits as early as 105 dpf for seabass (400-500 mg) and by developing further common garden experiments.

Acknowledgments

The research leading to these results received funding from the European Union Seventh Framework Program (FP7/2007-2013) under grant agreement No. 262336, AQUAEXCEL. The authors gratefully acknowledge the funding of this work by the European Union and by the county council of Charente Maritime (PhD grant to SF).

References

- Acolas, M.L., Roussel, J.M., Lebel, J.M., Baglinière, J.L., 2007. Laboratory experiment on survival, growth and tag retention following PIT injection into the body cavity of juvenile brown trout (*Salmo trutta*). Fisheries Research 86, 280-284.
- Ali, S, Champagne, D., Richardson, M.K., 2012. Behavioral profiling of zebrafish embryos exposed to a panel of 60 water-soluble compounds. Behav. Brain Res. 228, 272-283.
- Armstrong, J.D., Braithwaite, V.A., Rycroft, P., 1996. A flat-bed passive integrated transponder antennae array for monitoring behavior of Atlantic salmon parr and other fish. J. Fish Biol. 48, 539–541.
- Baras, E., Westerloppe, L., Mélard, C., Philippart, J.C., Bénech, V., 1999. Evaluation of implantation procedures for PIT-Tagging juvenile Nile tilapia. North American Journal of Aquaculture 61, 246-251.
- Baras, E., Malbrouck, C., Houbart, M., Kestemont, P., Mélard, C., 2000. The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size. Aquaculture 185, 159-173.



- Barnabé, G., 1976. Contribution à la connaissance de la biologie du loup, *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson Serranidae). Thèse de Doctorat d'état, mention Sciences, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 426p.
- Bégout Anras, M.-L., Bodaly, R.A., McNicol, R.E., 1998. Use of an acoustic beam actograph to assess the effects of external tagging procedure on lake whitefish swimming activity. *Transactions of the American Fisheries Society*, 127, 329-335.
- Bégout, M.-L., Kadri, S., Huntingford, F. Damsgård, B., 2012. Techniques for studying the behavior of farmed fish. In *Aquaculture and Behavior* (ed. F. Huntingford, M. Jobling and S. Kadri), pp. 65-86. Chichester: John Wiley and Sons Ltd.
- Bergensen, E. P., Rogers, K. B., Conger L.V., 1994. A livestock hormone pellet injector for implanting PIT tags. *North American Journal of Fisheries Management* 14, 224-225.
- Benhaïm, D., Guyomard, R., Chatain, B., Quillet, E., Bégout, M.-L., 2013. Genetic differences for behavior in juveniles from two strains of brown trout suggest an effect of domestication history. *Applied Animal Behavior Sciences* 147, 235-242.
- Brannäs, E., Alanärä, A., 1993. Monitoring the demand feeding activity of individual fish with a demand feeding system. *J. Fish Biology* 42, 209-215.
- Brannäs, E., Alanärä, A., 1994. Effect of reward level on individual variability in demand feeding activity and growth rate in Arctic charr and rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 45, 423-434.
- Brennan, N. P., Leber, K. M., Blankenship, H. L., Ransier, J. M., DeBruler Jr, R. 2005. An evaluation of coded wire and elastomer tag performance in juvenile common snook under field and laboratory conditions. *North American Journal of Fisheries Management* 25, 437-445.
- Bridger, C.J., Booth, R.K., 2003. The effects of biotelemetry transmitter presence and attachment procedures on fish physiology and behavior. *Reviews in Fisheries Sciences* 11, 13-34.
- Champigneulle, A., Escomel, J., Laurent, P. 1987. Marquage d'ombles chevalier (*Salvelinus alpinus*) de petite taille par injection de micromarques magnétisées. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 304, 22-31.
- Chatain, B., 1994. Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*. Thèse de Doctorat d'Etat, Univ. d'Aix-Marseille II 199 pp.
- Çoban, D., Yildirim, Ş., Kamaci, H. O., Suzer, C., Saka, Ş., Firat, K., 2011. External morphology of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) related to sexual dimorphism. *Turkish Journal of Zoology* 35, 255-263.
- Cousin, X., Daouk, T., Péan, S., Lyphout, L., Schwartz, M.-E., Bégout, M.-L., 2012. Electronic individual identification of zebrafish using radio frequency identification (RFID) microtags. *J. Exp. Biol.* 215, 2729-2734.
- Decourtye, A., Devillers, J., Aupinel, P., Brun, F., Bagnis, C., Fourier, J., Gauthier, M., 2011. Honeybee tracking with microchips: a new methodology to measure the effects of pesticides. *Ecotoxicology* 20, 429-437.

- Ficke, A. D., Myrick, C. A., Kondratieff, M. C., 2011. The effects of PIT tagging on the swimming performance and survival of three nonsalmonid freshwater fishes." *Ecological Engineering* 48: 86-91.
- Gibbons, J. W., Andrews, K. M., 2004. PIT tagging: simple technology at its best. *BioScience*, 54, 447-454.
- Garner, JP., 2005. Perseveration and stereotypy-systems-level insights from clinical psychology. In: J Rushen, G Mason, eds. *Stereotypic Animal Behavior: Fundamentals and Applications to Welfare*. 2nd ed. Wallingford UK: CAB International.
- Laursen, D.C., Olsén, H. L., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.
- Millot, S., Bégout, M.L., Chatain, B., 2009. Risk-taking behavior variation over time in seabass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *J. Fish Biol.* 75, 1733-1749.
- Montoya, A., López-Olmeda, J. F., Lopez-Capel, A., Sánchez-Vázquez, F. J., Pérez-Ruzafa, A., 2012. Impact of a telemetry-transmitter implant on daily behavioral rhythms and physiological stress indicators in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Marine Environmental Research* 79, 48-54.
- Moreau, M., Arrufat, P., Latil, G., Jeanson, R., 2011. Use of radio-tagging to map spatial organization and social interactions in insects. *J. Exp. Biol.* 214, 17-21.
- Navarro, A., Oliva, V., Zamorano, M.J., Gines, R., Izquierdo, M.S., Astorga, N., Afonso, J.M., 2006. Evaluation of PIT system as a method to tag fingerlings of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): Effects on growth, mortality and tag loss. *Aquaculture* 257, 309-315.
- Ombredane, D., Baglinière, J.L., Marchand, F., 1998. The effects of passive integrated transponder tags on survival and growth of juvenile brown trout (*Salmo trutta* L.) and their use for studying movement in a small river. *Hydrobiologia* 371/372, 99–106.
- Padilla, S, Hunter, DL, Padnos, B, Frady, S, MacPhail, R.C., 2011. Assessing locomotor activity in larval zebrafish: Influence of extrinsic and intrinsic variables. *Neurotoxicology and Teratology* 33, 624-30.
- Peterson, N. P., Prentice, E. F., Quinn, T.P., 1994. Comparison of sequential coded wire and passive transponder tags for assessing overwinter growth and survival of juvenile coho salmon. *North American Journal of Fisheries Management* 14:870–873.
- Piferrer, F., Blazquez, M., Navarro, L., Gonzalez, A., 2005 Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in the European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* 142: 102–110.
- Prentice, E. F., Park, D. L., Sims, C.W., 1984. A study to determine the biological feasibility of a new fish tagging system. Report (contract DEA179- 83BP1192, project 83-19) to Bonneville Power Administration, Portland, Oregon.
- Prentice, E.F., Flagg, T.A., McCutcheon, C.S., Brastow, D.F., 1990a. PIT-Tag monitoring systems for hydroelectric dams and fish hatcheries. *Am. Fish. Soc. Symp.* 7, 323–334.



- Prentice, E.F., Flagg, T.A., McCutcheon, C.S., 1990b. The effect of passive integrated transponder (PIT) tags in salmonids. *Am. Fish. Soc. Symp.* 7, 317–322.
- Saillant, E., Fostier, A., Menu, B., Haffray, P., Chatain, B., 2001. Sexual growth dimorphism in seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 202, 371-387.
- Saillant, E., Fostier, A., Haffray, P., Menu, B., Laureau, S., Thimonier, J., Chatain, B., 2003. Effects of rearing density, size grading and parental factors on sex ratios of the seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) in intensive aquaculture. *Aquaculture* 221, 183-206.
- Summerfelt, R.C., Smith, L.S., 1990. Anesthesia, surgery, and related techniques. *Methods for fish biology: American Fisheries Society, Bethesda, Maryland*, 213-272.
- Turner, M., 1997. Towards an executive dysfunction account of repetitive behavior in autism. In: Russell J, ed. *Autism As an Executive Disorder*. New York: Oxford University Press. p 57-100.
- Tveteras, R., Nystoyl, R., 2011. Fish production. Estimates & Trends 2011-2012. CD Abstracts. Proceeding of Global Outlook for Aquaculture Leadership 2011, 6-9 Nov 2011. Santiago, Chile.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Chavanne, H., Chatain, B., 2007. A polygenic hypothesis for sex determination in the European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Genetics*. 176, 1049-1057.
- Winter, J. D., 1983. Underwater biotelemetry. In *Fisheries Techniques* (ed. L. A. Nielsen and D. L. Johnson), pp. 371-395. Bethesda, MD: American Fisheries Society.

Chapitre 2:

Article II : Consistency of European seabass coping style: A life history approach

Applied Animal Behavior Science, in press.



Capture d'écran Ethovision du maze utilisé pour évaluer l'exploration (le tracé rouge correspond à la trajectoire d'un individu)

Sébastien Ferrari

Sandie Millot

Didier Leguay

Béatrice Chatain

Marie-Laure Bégout

L'objectif majeur de nos travaux était de caractériser les traits de personnalité chez le bar européen. L'étude des traits de personnalité étant relativement nouvelle, peu de littérature sur ce sujet était disponible, et en particulier sur notre modèle d'étude. Une première étape a donc été d'adapter des tests de personnalité couramment utilisés chez les salmonidés, famille relativement bien caractérisée d'un point de vue génétique, comportemental mais aussi physiologique. Comme cela a été expliqué au début de cette thèse, caractériser la personnalité consiste à évaluer des réponses comportementales individuelles dans différentes situations, mais aussi d'estimer la cohérence dans le temps de ces dernières. Ayant validé par notre première étude (Article I) l'intérêt de la méthode du micro marquage intra-coelomique et son absence d'effet sur le comportement, nous avons choisi d'utiliser un suivi comportemental sur le long terme et ceci depuis un âge précoce (de 129 jours post éclosion - 2.55 g de poids moyen - à 739 jours - 639.4 g -, soit un suivi sur 630 jours au total), puis de suivre les comportements individuels en testant différents intervalles de temps entre les répétitions, et en associant des suivis de paramètres physiologiques, en particulier les taux de cortisol plasmatique souvent utilisés pour évaluer les niveaux de stress chez les téléostéens. Ceci nous a permis d'une part de faire le lien entre comportement et physiologie, mettant en évidence l'existence de *coping styles* chez le bar, et d'autre part de déterminer les tests les mieux adaptés à notre espèce. Nous avons par ailleurs réalisé des tests en situation individuelle et en situation de groupe pour les raisons suivantes : les salmonidés sont des téléostéens plutôt territoriaux et agressifs dès leur plus jeune âge, contrairement au bar qui est plutôt social et grégaire même si ce caractère diminue avec l'âge. L'isolation chez cette espèce constitue un stress important. Par ailleurs, l'objectif du projet Copewell étant de déterminer les liens entre personnalité et capacité d'adaptation dans l'objectif d'améliorer le bien-être des animaux par le biais de programmes de sélection incluant ces critères, il était essentiel de pouvoir déterminer la personnalité d'un nombre important d'individus, première étape nécessaire avant de pouvoir mettre en place de tels programmes. Cette réflexion générale correspond à l'article II de cette thèse, intitulé *Consistency of European seabass coping style : a life history approach*, dont voici un résumé en français.

Cette étude a fait l'objet d'une présentation sous forme de poster au World Fisheries Congress 2012 à Edimbourg (Ecosse), ainsi que sous forme de présentation orale aux Journées de la Recherche Filière Piscicole 2012 à Paris (France), au congrès annuel de la Society of Experimental Biology 2013 à Valence (Espagne), ainsi qu'à la European Aquaculture Society 2014 à Saint Sébastien (Espagne).

Résumé de l'Article II :

Depuis quelques années, nous assistons à un intérêt croissant pour l'analyse de la cohérence des réponses comportementales à travers le temps et/ou les situations, à la base du concept de « coping style », ou de « personnalité ». Comprendre cette variation inter individuelle est essentielle afin d'améliorer les connaissances sur la valeur adaptative du comportement. Les « coping styles » peuvent avoir de nombreuses implications biologiques et/ou écologiques, et le développement de méthodes de caractérisation de ces derniers pour chaque espèce apparaît comme le meilleur moyen pour y parvenir et incorporer les réponses comportementales dans des programmes de sélection visant à améliorer le bien-être des animaux d'élevage. Nous avons testé 30 juvéniles de bar européen *Dicentrarchus labrax*, au minimum 2 fois avec des tests individuels (comportement de reprise alimentaire en situation isolée, agressivité, exploration dans un labyrinthe en T et test de contention) et en groupe (test de prise de risque et de tolérance à l'hypoxie) afin d'évaluer la cohérence de ces comportements à court et long terme. Dans notre expérience, les tests individuels n'ont pas permis de révéler de cohérence dans le temps ni entre les situations. L'intervalle de temps entre les tests, l'âge, l'apprentissage mais aussi la spécificité des réponses comportementales selon les espèces sont apparues comme ayant une importance majeure. A l'opposé, les tests en groupe tels que le test de prise de risque ou bien le test de tolérance à l'hypoxie se sont avérés cohérents dans le temps (à la fois sur le court et long terme). Ces tests apparaissent comme étant les plus appropriés pour la caractérisation des « coping styles » chez le bar. Par ailleurs, les résultats de ces tests se sont avérés prédictifs des réponses physiologiques concernant les taux de cortisol plasmatique, la principale hormone impliquée dans la réponse au stress. Ces tests sont simples d'utilisation et permettent la caractérisation d'un nombre important d'individus, étape essentielle pour des programmes de sélection incluant les profils comportementaux.

Consistency in European seabass coping styles: A life history approach.

Applied Animal Behavior Science, in press.

Sébastien Ferrari^{ab}, Sandie Millot^a, Didier Leguay^a, Béatrice Chatain^{bc}, Marie-Laure Bégout^a

a) Ifremer, Laboratoire Ressources Halieutiques, Place Gaby Coll, BP7, 17137 L'Houmeau, La Rochelle, France

b) UMR 110 INTREPID, Ifremer-Cirad, 34000 Montpellier, France

c) Station Expérimentale d'Aquaculture Ifremer, Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-Les-Flots, France

Correspondence should be addressed to: sebferrari@hotmail.fr

Abstract

Recent years have seen a growth of interest in the consistent differences in individual behavior over time and contexts constituting so-called “individual coping styles”. An understanding of this inter-individual variation is essential to improve our knowledge of the adaptive value of behavior. Coping styles may have implications in diverse fields, so the development of appropriate screening methods for each species appears to be the most effective way to extend our knowledge and to incorporate behavioral responses into selection-based breeding programs, to improve the domestication and welfare of farmed fish. We tested 30 juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*) at least twice in individual-based tests (feeding recovery in isolation, aggressiveness, exploration in a T-maze and net restraint) and group-based tests (risk-taking and hypoxia sorting), to assess coping style consistency in the short and long term and between tests. The results of individual-based tests were inconsistent over time and between tests in our set-up: the time between repeat tests, learning and species-specific behavioral responses appeared to have a major impact. By contrast, the results of group-based tests, such as risk-taking and hypoxia sorting, appeared to be consistent (both in the short and long term). These tests therefore appeared to be the most relevant for the characterization of coping style in European seabass. Furthermore, the results of these tests were also predictive of cortisol stress response. These tests are simple to perform and can be used to screen large numbers of fish, the first step in selection programs including behavioral profiles.

Key words: behavioral plasticity, repeatability, life stages, *Dicentrarchus labrax*.

1. Introduction

There has been an increase in interest in the consistent differences in individual behavior over time and contexts. Consistency is the predictability of repeated measurements for the same individuals, and it can be used to provide estimates for populations (Nunnally, 1967; Réale et al., 2007). It has been clearly shown that, within species (vertebrates or invertebrates), individuals may react differently to the same situation. This individual variability is generated by a collection of correlated physiological and behavioral responses, known as the coping strategy or coping style (Koolhaas et al., 1999). Various behavioral models reflecting coping strategies exist for mammals, birds and teleosts (cichlids, salmonids, sticklebacks and a large number of tropical fish, reviewed in Øverli et al., 2007). Individuals with divergent coping styles can be clustered into two main categories: proactive and reactive individuals. Proactive individuals tend to engage in active avoidance or cope with stressful stimuli (Koolhaas et al., 1999; Koolhaas, 2008) through a “fight or flight” response. Their behavior differs from that of reactive individuals as follows: 1) they are more aggressive/dominant (Øverli et al., 2004b; Castanheira et al., 2013a), 2) they show greater motivation to feed after transfer to a novel environment (Øverli et al., 2007), 3) they rapidly approach new objects (Castanheira et al., 2013b), 4) they take more risks (*i.e.* they are bolder) and are more likely to explore when exposed to novelty (Øverli et al., 2006b; MacKenzie et al., 2009; Martins et al., 2011a) and 5) they tend to develop a behavioral routine (Bolhuis et al., 2004; Ruiz-Gomez et al., 2011). Physiologically, a proactive strategy is associated with lower hypothalamus-pituitary-inter-renal (HPI) activity (de Boer et al., 1990; Øverli et al., 2005; Øverli et al., 2007; Silva et al., 2010) and higher sympathetic reactivity (Øverli et al., 2007) than in reactive individuals. Therefore, proactive animals typically have lower basal concentrations of glucocorticoids (the principal hormones involved in the stress response and the ultimate product of HPI axis activation) and lower stress-induced glucocorticoids concentrations (Øverli et al., 2007) than reactive individuals. As individuals differ in their behavioral and physiological responses, they probably display differential adaptation to different types of environment.

An understanding of this individual variation is essential, to increase our knowledge of the adaptive value of behavior (Wolf et al., 2007), which may affect individual fitness. Moreover, coping style has been shown to have implications in a wide range of fields (reviewed by Castanheira et al., 2013b) including behavioral ecology (Réale et al., 2007), neurosciences (Veenema et al., 2003a), aquaculture (Huntingford and Adams, 2005), welfare (Øverli et al., 2004b), health and susceptibility to disease (Fevolden et al., 1993a; Koolhaas, 2008), performance traits (Martins et al., 2011b) and interpretations of molecular responses (MacKenzie et al., 2009). In addition, several studies have demonstrated the existence of QTL associated with boldness and stress responses (Benus et al., 1991; Dingemanse et al., 2002; van Oers et al., 2004; Wright et al., 2006; Dingemanse et al., 2012; Rexroad et al., 2012), suggesting that it may be possible to select individuals on the basis of coping style.



Several methodological approaches have been used to characterize coping styles in fish. The methods used have included individual-based tests, such as confinement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Øverli et al., 2004a; Øverli et al., 2007), recovery of feeding motivation in a novel environment in African catfish (*Clarias gariepinus*) (Martins et al., 2005) and rainbow trout (Øverli et al., 2007), Senegalese sole (*Solea senegalensis*) (Silva et al., 2010) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Martins et al., 2011c), exposure to a novel object in Nile tilapia (Martins et al., 2011c), aggression tests in rainbow trout (Øverli et al., 2007) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) (Castanheira et al., 2013a), and restraint tests in Senegalese sole (Silva et al., 2010; Martins et al., 2011a) and gilthead seabream (Arends et al., 1999; Castanheira et al., 2013a). Most of these behavioral tests are carried out in isolation conditions, but the gregarious character of certain species, may influence behavioral responses and should be taken into account when interpreting data (reviewed by Ashley, 2006). Some group-based tests have also been developed. Most of these tests concern risk-taking in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) (Milot et al., 2009b) or common carp (*Cyprinus carpio*) (Huntingford et al., 2010) and hypoxia exposure in rainbow trout (Laursen et al., 2011) and gilthead seabream (Castanheira et al., 2013b).

Most behavioral studies assessing the consistency of coping style over time are based on the use of different tests over a relatively short period (e.g. tests were repeated over one week by Budaev (1999) or two weeks by Castanheira et al. (2013b)). Analyses of the consistency of behavioral screening results between repeated tests or different challenges (cross-context analyses) are generally carried out over periods of one to eight days (Wilson and Stevens, 2005; Øverli et al., 2007; Wilson and Godin, 2009; Wilson et al., 2010). Few studies have investigated the repeatability of personality tests over both short and long intervals (see David et al., 2012). However, Bell et al. (2009) reported that repeatability was generally greater for experiments separated by short intervals than for those separated by longer intervals. This is not surprising, because several studies have indicated a role for various factors in shaping or influencing coping style. These factors include predation pressure (Brown and Braithwaite, 2004; Brown, 2005; Archard and Braithwaite, 2011; Archard et al., 2012), the predictability of food supply (Chapman et al. 2010) and food density (Dunbrack et al., 1996), social interactions (Chapman et al., 2008), temperature or hypoxia (Biro et al., 2010), learning (Milot et al., 2009b), environment stability (Brelvi et al., 2008) and stress (Ruiz-Gomez et al., 2008). Stamps and Groothuis, (2010) pointed out that behavioral tendencies that are consistent over short periods of time are likely to change over longer periods. Researchers must therefore consider carefully the observation intervals most appropriate for their focus species and for the questions addressed. We therefore decided to use a life history approach in our species of interest, seabass, a marine fish of particularly high commercial value, with a current mean European production of about 125,000 metric tons year⁻¹ (Tveteras and Nystoyl, 2011).

The aim of this study was to assess individual coping style through the use of various individual-based and group-based tests, adding a life history approach to data

interpretation. The chosen approach was the screening of individually tagged fish in repeated (at least twice) tests over a long period (629 days, from 129 to 758 days post hatching, dph), with the use of various intervals between tests. The aims were: (i) to assess behavioral and physiological consistency over time, and (ii) to define the most appropriate test for the characterization of coping style in seabass, and (iii) the most appropriate time interval between tests if repetition is needed. This approach made it possible to assess various aspects of individual behavioral consistency and to evaluate age and life experience effects. By using different tests, we were also able to analyse responses to different situations (“cross-context” analyses, [Wilson et al. 2010](#)). We adapted and developed screening methods for this particular purpose. The overall objective was to improve our understanding of seabass individual adaptation capacity, given that there is currently little or no domestication of this species. Indeed the use of coping style characterization could represent new keys for the sustainable development of aquaculture, in enhancing animal welfare, reducing disease susceptibility, and more directly improving production performances. It could also be an additional tool to improve the domestication process, selecting individuals better adapted to farming conditions (i.e. broodstock), but also showing higher growth performances.

2. Materials & Methods

2.1. Fish and experimental conditions

A batch of 200 juvenile seabass (87 dph, industrial strain), with an initial body weight of 0.5 ± 0.2 g (mean \pm SEM) were bought from Aquastream (Ploemeur, 56, France) and transferred to the laboratory on 01/11/2011. The animals were allowed to acclimate to the conditions and were then placed in one of six 400-litre tanks in the experimental room at the Fish Ecophysiology Platform in La Rochelle (<http://wwz.ifremer.fr/pep>, France).

Water was recirculated in these tanks with a flow rate of $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, with 15 % renewal per day. Tanks were protected by an opaque black curtain, to prevent disturbance. Each tank was illuminated by an overhead white light (Philips, 80W). The light cycle was controlled (13 hours day/ 11 hours night) and the same photoperiod was used for all experimental procedures. Sunrise and sunset were each simulated by a 30-minute twilight transition period, consisting of six steps of increasing or decreasing luminosity, regulated automatically by computer-driven potentiometers. Water temperature, oxygen saturation and salinity were monitored daily, to ensure that conditions were optimal: water temperature was maintained at $20.1 \pm 1.7^\circ\text{C}$, oxygen saturation at 75.2 ± 0.9 % and salinity at 26.9 ± 0.9 . Concentrations of nitrites, nitrates and ammonium were checked weekly (JBL kit) and the mean results were as follows: NO_2 $0.13 \pm 0.06 \text{ mg l}^{-1}$; NO_3 $0.97 \pm 0.11 \text{ mg l}^{-1}$; $\text{NH}_4 < 0.05 \text{ mg l}^{-1}$.



Fish were hand-fed each day with specialised commercial food (61% proteins, 33% lipids), according to the quantity/weight table provided by the supplier (INICIOplus, BIOMAR®, France).

One week after their arrival, we determined the weights and lengths of a subsample of 30 fish, which were then placed in a similar tank in the same room for further analyses to assess coping style. These individuals were tagged under anaesthesia with RFID glass microtags (Nonatec®, as described by Cousin et al., 2012 and Ferrari et al., 2014) at 115 dph (1.6 ± 0.26 g), two weeks before the start of the experimental procedure. They were double-tagged at 180 dph (8.45 ± 1.39 g), with a conventional ISO PIT Tag, to prevent a loss of identification due to the short distances over which Nonatec® microtags can be detected.

We assessed the coping styles of the fish in the subsample from 129 dph (2.56 ± 0.55 g) to 630 dph (639.35 ± 134.43 g), as shown in Table 1. Each fish was subjected to a series of different tests: individual-based tests such as feeding recovery in a novel environment (adapted from Øverli et al., 2007), aggression tests (adapted from Øverli et al., 2007), exploration tests in a T-maze (adapted from Ninkovic and Bally-Cuif, 2006), restraint in a net (adapted from Arends et al., 1999; Silva et al., 2010 and Martins et al., 2011a); and group-based tests such as risk-taking (adapted from Millot et al., 2009) and hypoxia exposure (adapted from Laursen et al., 2011) tests.

Table 1 : List of the behavioral tests applied to seabass, with the corresponding age in days post hatching (dph) and fish body weight (mean \pm SD) and the time interval (in days) between tests. The number of fish tested differs between tests because some fish were removed from the analysis due to technical problems or abnormal behavior.

Individual based test	Fish age (dph)	Time interval between sessions (days)	Fish BW (g, mean \pm sd)	Test number	N (number of fish tested)
Feeding Recovery #1	129		2.55 ± 0.55	1-1	30
Feeding Recovery #2	283	154	17.67 ± 2.95	1-2	29
Feeding Recovery #3	548	265	179.54 ± 35.20	1-3	21
Aggression test	137		2.68 ± 0.45	2-1	24
Exploration test T-Maze #1	150		5.31 ± 1.00	3-1	25
Exploration test T-Maze #2	311	161	27.53 ± 4.69	3-2	17
Restraint test #1	557		179.54 ± 35.20	4-1	22
Restraint test #2	739	182	552.01 ± 112.36	4-2	22
Restraint test #3	758	19	639.35 ± 134.43	4-3	17
Group based test					
Risk taking test #1	187		-	5-1	30
Risk taking test #2	202	15	10.13 ± 2.09	5-2	30
Risk taking test #3	216	14	10.92 ± 2.07	5-3	30
Hypoxia test #1	457		117.01 ± 21.50	6-1	24
Hypoxia test #2	502	45	-	6-2	24
Physiological measures					
Blood sampling #1	290	-	17.67 ± 2.95	after 1-2	16
Blood sampling #2	457	-	117.01 ± 21.50	after 6-1	15
Blood sampling #3	557	-	179.54 ± 35.20	after 4-1	22

2.2. Individual-based tests

2.2.1. Feeding recovery test (test 1)

Three sessions were carried out, to evaluate the consistency of feeding recovery in isolation. For the first session (test 1-1, Table 1), fish were measured and similar fish were paired (< 10 % difference in weight), because an aggression test was carried out immediately after the feeding recovery test (test 2, Table 1). The two fish of each pair were placed in two equal compartments of an isolation aquarium (l*w*h: 21.2*26.7*15 cm, 8.5 l) separated by a removable opaque PVC divider to prevent visual contact. The fish were hand-fed *ad libitum* two hours after transfer to isolation conditions and then once daily (between 12:00 and 14:00, and with the same commercial pellets described above), for two minutes, or until the fish rejected three consecutive pellets. Individual feeding behavior was carefully observed on each occasion. Food that had not been consumed was removed by siphoning with a transparent plastic hose. Feeding recovery behavior was assessed in detail by considering the following variables of interest: feeding score, time to feeding and total number of feeding days. Feeding score was rated on a four-point scale, according to the criteria listed in Table 1 in Øverli et al. (2007), and daily scores obtained over a one-week period were then summed for each individual. Briefly, if the fish did not respond to the food, it was attributed a score of 0; if the fish ate only pellets falling directly in front of it without moving to take food, the score was 1; if the fish moved more than one body length to take food, but returned to its original position in the aquarium between food items, the score was 2 and, finally, if the fish moved continuously between food items and consumed all the food presented, the score was 3. For each fish, feeding latency (in days), corresponding to the time until the first pellets were consumed during the experiment, was used as a quantitative measurement of the recovery of feeding behavior in a new environment. Total number of feeding days was determined as the number of days on which the fish ate at least one pellet.

This test was repeated three times (three sessions) on the same group of individuals: session 1 at 129 dph, session 2 at 283 dph (5 months later, test 1-2, Table 1) and session 3 at 548 dph (another 9 months later, test 1-3, Table 1). The volume of the aquarium was adjusted for fish body size, *i.e.*: l*w*h: 40*20*25 cm, 20 l for session 2 and 60*25*35cm, 52.5 l for session 3, without no divider for sessions 2 and 3 because no subsequent aggression test was carried out during these sessions (see next section).

2.2.2. Aggression test (test 2)

In the aggression test, each fish was provided with the opportunity to interact with another fish of similar size (maximum 10 % weight difference). After one week in isolation (Test 1-1, Table 1), pairs of fish were individually gently netted and placed into the behavior observation room (in four tanks: cage type 3, Bioscape GmbH, Germany; 42.3*26.5*15 cm, 7.5 cm water depth, 8.4 l). Each tank was separated into two equal compartments by an opaque PVC divider. The whole set-up was installed on an infrared floor (IR floor 1 × 1 m, Noldus, the Netherlands) to prevent light reflection. After 24 h of acclimation, the dividers



were removed and interactions were video-recorded at 25 frames per second (Ethovision XT recording, Noldus, the Netherlands; Ikegami CD48E camera; 2.8 - 12 mm Computar® lens equipped with an IR filter) for 60 minutes or until the dominant fish was clearly identified. The variables of interest were: chasing latency (*i.e.* the time in seconds until the first chase, defined as a sudden change in swimming direction and speed in response to an approach by the opponent), the number of chases, fight latency (*i.e.* the time in seconds until the first fight, defined as the fish making circular carousel-type movements around each other), and the number of fights (adapted from Reyes-Tomassini, 2009).

This test was carried out only once, at 137 dph.

2.2.3. Exploratory test in a T-maze (test3)

Fish were placed individually in a T-maze (100*20 cm, with a water depth of 15 cm, Figure 1). The whole set-up was placed on an infrared floor (as above) to prevent light reflection. The fish were allowed to recover for five minutes in the start box, and we then video-recorded 15 minutes of exploration behavior at 25 frames per second (Ethovision XT recording, Noldus, the Netherlands; Ikegami CD48E camera; 2.8 - 12 mm Computar® lens equipped with an IR filter). With the software used, we were able to separate the maze into three virtual zones: the start box zone, the open zone and the safe zone (end of one arm with a cover creating a shadowed area, Figure 1). The variables of interest were: time to entry into the open zone (s), total time spent in the open zone (s), total time spent in the safe zone (s) and the distance covered (expressed in body length. s^{-1}). Fish escaping directly from the start box when the door was opened were removed from analyses. Indeed, the start box was considered a safe area at the end of the five-minute recovery period. Thus, any fish escaping immediately from the start box when the door was opened were considered to have been frightened by human disturbance, such fear generally resulting in higher swimming velocity, greater exploration of the maze and a longer time spent in the open zone than for other fish. Such behavior cannot be considered “normal”.

This test was repeated twice, 161 days apart (tests 3-1 at 150dph and 3-2 at 311dph, Table 1).

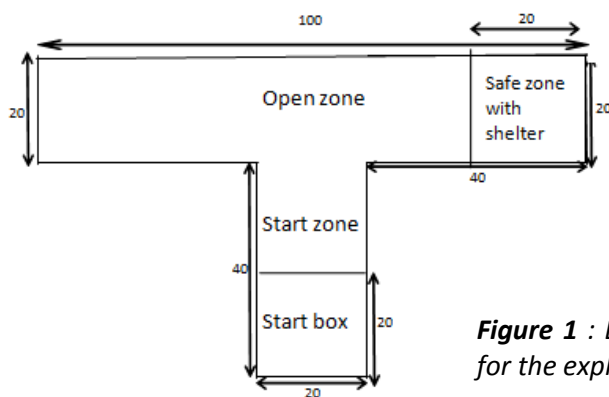


Figure 1 : Diagram and dimensions of the T maze used for the exploration test (tests 3-1 and 3-2).

2.2.4. Restraint test (test4)

In the net restraint test, each fish was held individually in a net, out of water, for three minutes (adapted from [Arends et al., 1999](#); [Silva et al., 2010](#); [Martins et al., 2011b](#)). While the fish was in the net, the following variables were measured: escape latency (*i.e.* the time in seconds to the first escape attempt, defined as an elevation of the body in the net, a jump); the total number of escape attempts and the total time (s) spent in trying to escape (*i.e.* the sum of the durations of all escape attempts).

This test was repeated three times, in session 1 at 557dph, session 2 at 739 dph and session 3 at 758 dph (tests 4-1, 4-2 and 4-3 respectively, Table 1)

2.3. Group-based tests

2.3.1. Risk-taking test (test 5)

We evaluated risk-taking behavior, by separating the tank (identical to rearing tank, 400 l) into two unequal zones with an opaque divider. The safe zone was shadowed, accounted for two thirds of the available space and contained all the fish at the start of the experiment. The other zone, the risky zone, was lit and accounted for the remaining one third of the space available. The opaque divider had a circular (12 cm Ø) opening at its centre, which was equipped with a PIT-tag detection antenna connected to a control device (adapted from [Millot et al., 2009](#)). This set-up made it possible to monitor individual passages through the opaque divider, which were attributed to a particular time point. Three tests were carried out, at 15-day intervals, starting at 187 dph (tests 5-1, 5-2 and 5-3, Table 1). Environmental conditions were kept constant for all three tests. The same procedure was used each time and the test lasted 24 h. The divider was installed in the tank at 11:30, and the opening was blocked for 30 minutes before the start of the test. The variables of interest for these tests were: the order in which individuals passed for the first time from the safe to risky area, the total number of passages through the opaque divider for each individual, used as a proxy of activity during the test, and time (min) to the first passage into the risky zone for each individual.

2.3.2. Hypoxia test (test 6)

In the hypoxia test, we decreased the oxygen concentration in one of the chambers of a two-chamber tank and assessed escape from the hypoxic to the normoxic compartment. The experiments were carried out with two identical circular tanks (70 l, h: 48 cm, diameter: 49.5 cm,) attached to each another via a transparent acrylic pipe (diameter: 11 cm, length: 30 cm, height from bottom: 23 cm) equipped on each side with a PIT-tag detection antenna connected to a control device for further analyses (see [Castanheira et al., 2013b](#) for a detailed diagram of the apparatus). Each tank was considered to be a separate environment individually equipped with an oxygen and air supply, which was switched off during the trials in the hypoxia tank (see below). All the fish were placed in one chamber of



the tank (which subsequently became the hypoxia tank) and were allowed to acclimate to the conditions for 30 minutes before the start of the experiment. The hypoxia tank was supplied with nitrogen, to induce hypoxic conditions during the experiment (nitrogen bubbling to decrease oxygen saturation from 90 % to 8 % in 1 hour). The second chamber of the tank, which was supplied with oxygen, is referred to as the normoxia tank. The variables of interest were: time taken to escape the hypoxia tank (*i.e.*, the time (min) taken by each fish to escape from the hypoxia tank to the normoxia tank), the order in which individual fish escaped the hypoxia tank, the oxygen level in the hypoxia tank when the fish first passed into the normoxia tank (% saturation) and the number of returns to the hypoxia tank. The hypoxia test ended when two thirds of the fish had escaped from the hypoxia tank or when 8% oxygen saturation was reached (water temperature 20°C, salinity 26.9). Once an individual escaped from the hypoxic tank into the normoxia tank, it was considered to be a hypoxia avoider (HA), regardless of the number of times it subsequently returned to the hypoxia tank, whereas fish remaining in the hypoxia tank were considered to be hypoxia-tolerant (HT). Controls experiments were performed three times (3*60 individuals), using the same set-up but without hypoxia induction. The test was performed twice, during session 1 at 457 dph and session 2 at 502 dph (tests 6-1 and 6-2 respectively, Table 1).

2.4. Physiological measurements

Physiological measurements were carried out after feeding recovery session 2 (when the fish had grown sufficiently for blood sampling to be feasible), hypoxia test session 1 and restraint test session 1, to enable us to link plasma cortisol concentrations and behavioral responses.

Immediately after the final observation period of feeding recovery test session 2 (test 1-2, 290 dph), the fish were anaesthetised in the isolation tank. Care was taken to ensure that the fish could not see the researcher. Blood samples were then taken from the fish, for the evaluation of cortisol levels in undisturbed conditions and fish were taken back to their home tank after waking up. At the end of the hypoxia test (test 6-1, 457 dph), blood samples were collected from the anaesthetised fish in the two experimental tanks (normoxia and hypoxia), the values obtained being considered to correspond to cortisol concentrations after acute stress. Fish were taken back to their home tank after waking up. Finally, as described by Arends et al. (1999), fish were individually isolated in an aquarium (60*25*35 cm) for 30 minutes after the net restraint test (test 4-1, 557dph). They were then quickly removed from the tank and anaesthetised for blood sampling; hereafter fish were taken back to their home tank after waking up. The individual plasma cortisol concentrations measured in undisturbed conditions (test 1-2) were compared with those obtained after acute stress (tests 4-1, 6-1).

The same blood sampling procedure was used in each case: fish were anaesthetised with 325 µl.L⁻¹ of a stock solution of benzocaine (a 10% stock solution of ethyl-p-

aminobenzoate-E1501, from Sigma, St Louis, MO, USA, was prepared by dissolving 100 g in 1 l of 100% ethanol), and blood samples were obtained within 3 minutes, from the caudal vein, with heparinised syringes. The blood was centrifuged (5 min at 3500 g) to obtain plasma samples, which were stored at -22°C. Plasma cortisol concentration was determined with an ELISA kit (RE52061, IBL, Germany). All other fish manipulations, such as weighing and length measurements, were performed under the same conditions of anaesthesia. The number of fish used in behavioral tests differed in some cases from the number of fish for which plasma cortisol concentrations were obtained, because technical problems prevented the analysis of some blood samples.

After all experiments were finished, fish were killed with an overdose of anaesthetic and phenotypic sex was determined according to the method described by (Barnabé, 1976, in Ferrari et al. 2014).

2.5. Individual stability

Consistency refers to the predictability of repeated measurements of behavior in a group of individuals, whereas stability refers to within-individual repeatability of behavior (Nunnally, 1967; Sih et al., 2004). Several indices are available for estimating the stability of behavior within an individual. We calculated the coefficient of relative plasticity (CRP) for each individual, as described by Réale and Dingemanse (2010), as the ratio of individual trait variance (V_i) to the overall phenotypic variance (V_p) of the population: $CRP_i = V_i/V_p$. CRP provides a standardised index of the variation of a given trait within a focal individual, relative to its population.

2.6. Data analysis

We carried out Shapiro-Wilk tests to check that the data were normally distributed and Bartlett's test to check for variance homogeneity. We calculated the mean and standard deviation (SD), to assess the variability of behavioral responses. For each variable of interest, inter-individual variability was assessed by calculating the coefficient of variation ($CV = SD/mean \times 100, \%$) as a normalised measure of dispersion. For each behavioral test, we assessed the correlation between the values of each variable of interest between individuals. The variables of interest in each test were then collapsed into first principal component scores (PC1, this method provided one value per individual on the PC1 axis) by principal component analysis (PCA).

We analysed the consistency of behavior, by assessing the correlation between the PC1s of sessions 1 and 2. Pearson's correlation tests were carried out for normally distributed data, whereas Spearman's rank correlation tests were carried out for data that were not normally distributed. For analyses of cross-context consistency, the PC1s of sessions 1 and 2 were averaged for each test, and the correlation between tests was analysed using Spearman tests with $N=24$ individuals (the smallest sample size) and $\alpha=0.05$



corrected using Bonferroni method with $n=5$ tests, the threshold for significance is $r_{s(N=24, \alpha=0.01)} > 0.476$ (p 793, in Scherrer 1984).

A non-parametric test, the Mann-Whitney U test, was used to analyse differences in plasma cortisol concentrations between HA and HT fish in the hypoxia test. The repeatability of relative plasticity (CRP) was assessed for each individual, as described by Nakayama and Schielzeth (2010), with GLMMs in the lme4 package for R (Development Core Team, 2005). One model (Mod1) including individual identity and a false identity variable with the same value for each individual as random factor (`Mod1 <- glmer(CRP~Behavior+(1|Individuals)+(1|False))`) was compared with another model without individual identity as a variable (`Mod2 <- glmer(CRP~Comportement+(1|False))`). The Akaike information criterion (AIC) was calculated for each model and compared between models in likelihood ratio test (LRT) analyses of variances (ANOVA). Other statistical analyses were performed with Statistica for windows (Statsoft, USA), and values of $p < 0.05$ were considered significant in all tests.

3. Results

3.1. Individual variation

An analysis of coefficients of variation (min: 12.9%; max: 401.8%) revealed considerable inter-individual variability in the variables measured in the various tests carried out (Table 2). This suggests that there was a high level of behavioral plasticity in this group of fish, given that experimental conditions were otherwise equal.

Table 2 : Means (\pm SD) of the variables of interest measured during sessions 1, 2 and 3 of the individual- and group-based screening tests; inter-individual variation is represented by the coefficient of variation ((CV = standard deviation / mean * 100), %).

Behavioural test	Variables	Session 1		Session 2		Session 3	
		Mean \pm sd	CV (%)	Mean \pm sd	CV (%)	Mean \pm sd	CV (%)
Feeding recovery	Total feeding score	7.0 \pm 3.6	51.3	3.8 \pm 3.9	101.5	0.4 \pm 1.1	261.6
	Feeding latency (days)	2.2 \pm 1.5	69.0	3.3 \pm 2.4	70.7	6.7 \pm 0.9	12.9
	Total feeding days (days)	4.6 \pm 1.5	31.8	2.5 \pm 2.0	80.7	0.3 \pm 0.9	256.9
Exploratory test	Time in open zone (s)	17.6 \pm 29.4	167.0	676.2 \pm 183.1	27.1	-	-
	Time in safe zone (s)	259.7 \pm 337.2	129.8	119.2 \pm 149.5	125.4	-	-
	Distance moved (BL)	82.9 \pm 48.1	58.0	244.9 \pm 163.3	66.7	-	-
Restraint test	Escape latency (s)	3.4 \pm 2.7	79.6	13.9 \pm 15.7	113.1	73.9 \pm 58.4	79.0
	Escape attempts	37.1 \pm 19.1	51.5	15.5 \pm 6.0	38.5	4.4 \pm 3.4	79.1
	Escape duration (s)	33.0 \pm 21.2	64.2	10.2 \pm 4.4	43.4	4.2 \pm 3.3	79.0
Risk taking test	Time to 1 st passage (min)	568.7 \pm 521.4	91.7	96.0 \pm 254.2	264.9	63.6 \pm 255.8	401.8
	Nb of returns	86.5 \pm 128.9	149.1	268.2 \pm 159.2	59.4	309.0 \pm 161.9	52.4
Hypoxia test	O2 at first passage (%)	30.6 \pm 18.0	57.8	21.9 \pm 12.0	54.6	-	-
	Nb of returns	1.3 \pm 4.7	361.3	5.2 \pm 16.2	309.6	-	-
	Time to 1 st passage (min)	38.7 \pm 26.5	68.4	43.2 \pm 21.0	48.6	-	-



3.2. Individual consistency of behavioral and physiological responses over time and contexts

3.2.1. Individual-based tests

3.2.1.1. Feeding recovery test (test1)

In the first session, feeding activity recovered over several days, as illustrated by the increase in the frequency of a score of 3 during the course of the week (Figure 2A). Feeding recovery scores were lower during session 2 (Figure 2B), and almost no feeding recovery was observed in session 3 (Figure 2C), when the fish were at their oldest (548 dph) and displayed thigmotactic behavior (remaining close to one corner of the tank), avoiding pellet ingestion or moving towards the experimenter (visual observations). Feeding latency increased between sessions 1 and 2, from 2.2 days to 3.3 days, and reached 6.7 days in session 3 (Table 2). No individual correlation between the three sessions was found for these two variables. However, a significant positive correlation was found between the total number of feeding days of sessions 1 and 2 ($r_s=0.39$; $p=0.04$) for individuals, whereas no such correlation was observed between sessions 1 and 3 ($r_s=0.08$; $p=0.74$) or sessions 2 and 3 ($r_s=0.26$; $p=0.24$). Principal component analysis (PC1 scores) revealed an absence of consistency: no correlation was found between the PC1s for sessions 1 and 2 ($r_s=0.33$; $p=0.09$), sessions 1 and 3 ($r_s=0.05$; $p=0.83$) or sessions 2 and 3 ($r_s=0.12$; $p=0.59$) although PC1s axes explained 84.8 to 97.2% of the variability of the dataset (table3)

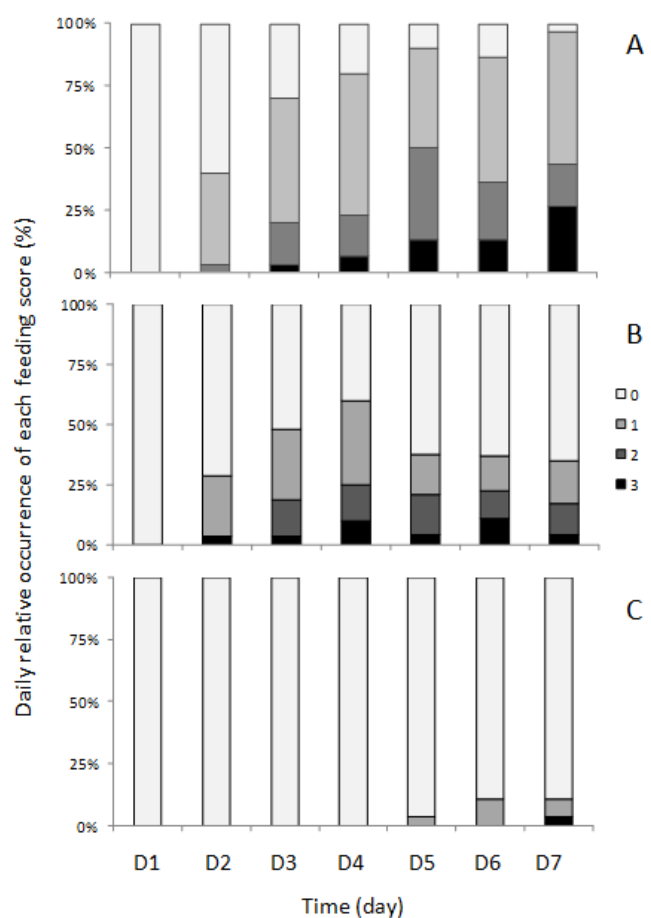


Figure 2 : Relative occurrence of each feeding score (according to the scoring table from Øverli et al., 2007). A: session 1 (test 1-1); B: session2 (test 1-2); C: session 3 (test 1-3).

3.2.1.2. Aggression test (test 2)

When the divider was removed for studies of dominance-subordination interactions, the fish encountered each other and swam side by side. Aggressive interactions were observed for only one of the 12 pairs of fish tested, (107 chases by the dominant fish), beginning after 10.1 minutes. Given the lack of aggressive interactions observed in this initial test, it was not repeated during subsequent sessions and was not analysed further.

3.2.1.3. Exploratory test in a T-maze (test 3)

In total, 25 fish were tested in both sessions 1 and 2, but eight of the fish tested in session 2 were removed from the analysis due to abnormal behavior (see Methods section). The fish spent almost 40 times longer in the open zone in session 2 than in session 1, spending only half as long in the safe zone and covering a distance five times longer than that in session 1 (Table 2). No correlation was found between sessions 1 and 2 for the individual values of any of the variables measured. The PC1s on session 1 and 2 explained respectively 38.1 and 46.1 % of the dataset (table 3). PC1 correlation analysis revealed an absence of consistency in exploratory behavior between sessions 1 and 2 ($r_s=0.08$, $p=0.79$).

3.2.1.4. Restraint test (test 4)

Time to first escape attempt (escape latency) was four times longer in session 2 than in session 1 (Table 2), whereas the number of attempts to escape from the net decreased significantly over the course of the three sessions (Friedman ANOVA, $\chi^2=28.35$; $p<0.001$), from 37.1 in session 1 to 15.5 in session 2 and 4.4 attempts in session 3 (Figure 3). No individual correlation was observed for any of the variables tested. For individuals, PC1 correlation analyses revealed an absence of consistency between sessions 1 and 2 ($r_s=0.19$; $p=0.39$), sessions 2 and 3 ($r_s=-0.06$; $p=0.8$) and sessions 1 and 3 ($r_s=0.36$; $p=0.15$). The PC1s on session 1, 2 and 3 explained respectively 60.1, 63.1 and 63.8 % of the dataset (table 3).

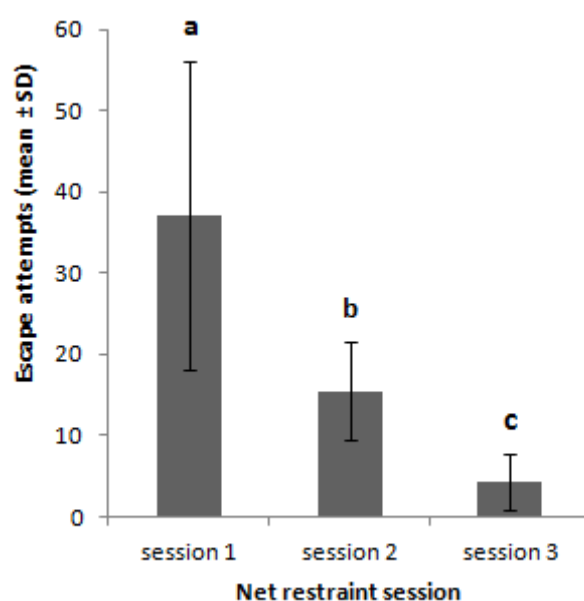


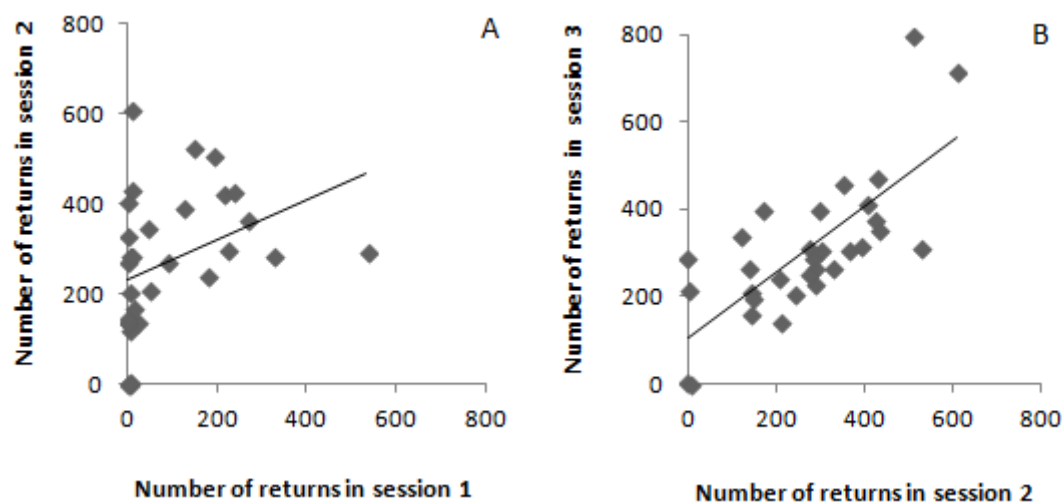
Figure 3 : Number of escape attempts at each session of the net restraint test (tests 4-1; 4-2 and 4-3; mean \pm SD). Different letters indicate significant differences between sessions ($p<0.05$).



3.2.2. Group-based tests

3.2.2.1. Risk-taking test (test 5)

Time to first passage into the risky zone decreased strongly between sessions 1 and 2, from 568.7 to 96.0 minutes (Table 2). By contrast, the number of returns into the safe zone was three times higher in session 2 than in session 1 (86 in session 1 and 289 in session 2; Table 2). The order in which the fish escaped was not correlated between sessions 1 and 2 ($r_s = 0.22$; $p=0.22$), sessions 1 and 3 ($r_s=0.11$; $p=0.52$) or sessions 2 and 3 ($r_s=0.25$; $p=0.17$). Nevertheless, risk-taking test results were consistent in terms of individual activity (evaluated by considering the number of passages/2 to be the number of returns to the safe zone). Indeed, individual values were significantly correlated between sessions 1 and 2 ($r_s = 0.49$; $p=0.006$; Figure 4A), and even more strongly correlated between sessions 2 and 3 ($r_s = 0.72$; $p<0.001$; Figure 4B), whereas only a trend was observed between sessions 1 and 3 ($r_s=0.33$; $p=0.06$, not shown). In addition, the order in which the fish escaped was correlated with the number of returns to the safe zone of individual fish in sessions 1 and 2 (session 1: $r_s = -0.54$, $p=0.002$, Figure 5A; session 2: $r_s = -0.67$, $p<0.001$, Figure 5B), but not in session 3 ($r_s = -0.28$; $p=0.13$, data not shown). The PC1s on session 1, 2 and 3 explained respectively 72.8, 66.1 and 52.4 % of the dataset (table 3). The PC1s for sessions 1 and 2 were correlated ($r_s=0.51$, $p=0.003$, Figure 6A), as were those for sessions 2 and 3 ($r_s=0.53$; $p=0.002$; Figure 6B), but no correlation was found between the PC1s of sessions 1 and 3 ($r_s=0.32$, $p=0.08$, data not shown) hereby showing consistency in individual consistency.



Figures 4 : Correlations between the number of returns to the safe zone during the risk-taking test: **A** - in sessions 1 (test 5-1) and 2 (test 5-2) and **B** - in sessions 2 (test 5-2) and 3 (test 5-3).

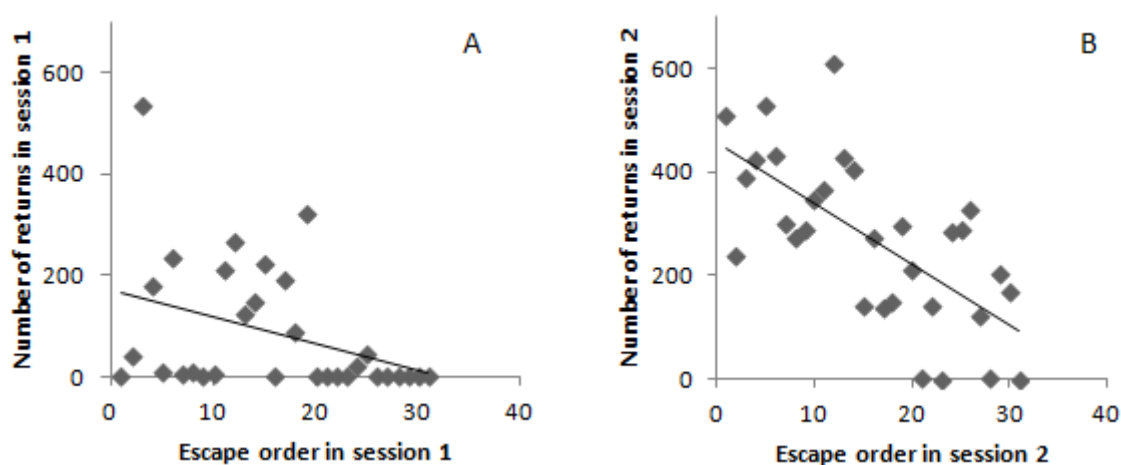


Figure 5 : Correlations between risk-taking behavior (escape order) and activity level (number of returns to the safe zone): **A** - during session 1 (test 5-1) and **B** - during session 2 (test 5-2).

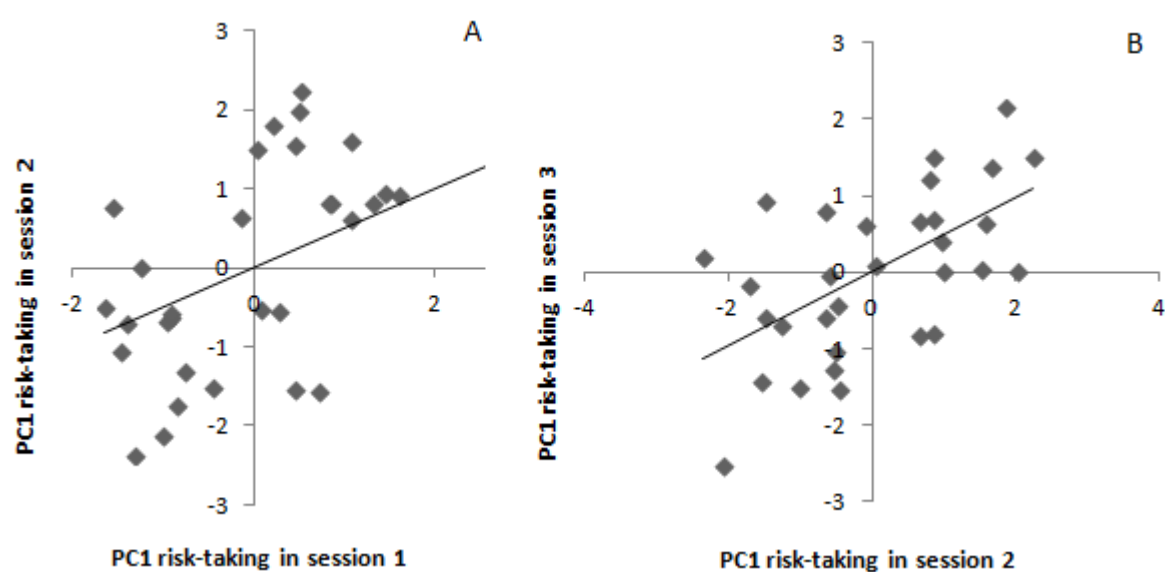


Figure 6 : Individual consistency in risk-taking behavior: **A** - between sessions 1 (test 5-1) and 2 (test 5-2) and **B** - between sessions 2 (test 5-2) and 3 (test 5-3).

3.2.2.2. Hypoxia test (test 6)

In the three control tests, only three fish passed through the opening, confirming the necessity of hypoxia induction to trigger the movement of the fish from the hypoxia tank to the normoxia tank and validating the test protocol. There were four times as many returns



to the hypoxia tank in session 2 than in session 1 (5.22 versus 1.29; Table 2). The mean time to first passage into the normoxia tank remained stable over time, at 38.7 minutes in session 1 and 43.2 minutes in session 2 (Table 2). Hypoxia tolerance in session 1 was positively correlated with the individual number of returns in session 2 ($r_s = 0.69$; $p < 0.001$, data not shown). The order in which individuals escaped was positively correlated between sessions 1 and 2 ($r_s = 0.78$; $p < 0.001$). The PC1s on session 1 and 2 explained respectively 75.4 and 81.9 % of the dataset (table 3). A strong positive correlation was found between the PC1s for sessions 1 and 2 ($r_s = 0.65$; $p < 0.001$; Figure 7) showing a high consistency in individual response.

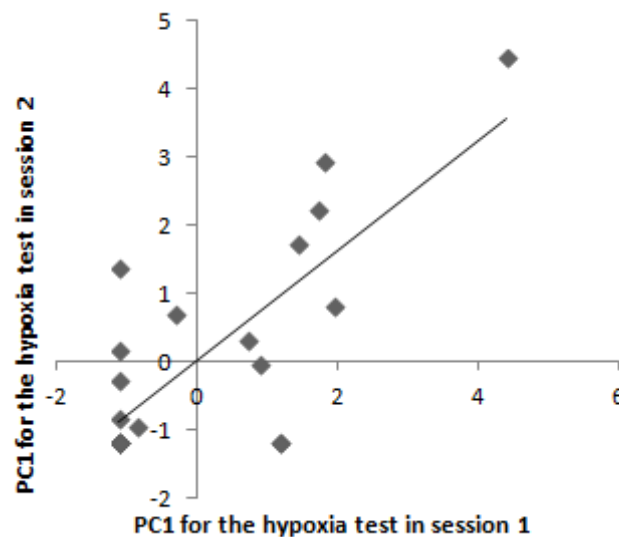


Figure 7 : Correlations between hypoxia tolerance in sessions 1 (test 6-1) and 2 (test 6-2).

3.3. Link between behavioral and physiological measurements

At the end of the feeding recovery test (session 2), mean plasma cortisol concentration was $244.96 \pm 197.72 \text{ ng.ml}^{-1}$, with a CV of 80.72 % indicating a high level of variability in the population. No correlation was found between this variable and the PC1 for the feeding recovery test ($r_s = 0.40$; $p = 0.14$).

Thirty minutes after the restraint test (session 1), cortisol concentration was $509.27 \pm 135.11 \text{ ng.ml}^{-1}$, with a CV of 26.53%, and was not correlated with the PC1 for the net restraint test ($r_s = -0.32$; $p = 0.19$). By contrast, it was significantly negatively correlated with the individual number of escape attempts ($r_s = -0.54$; $p = 0.02$; Figure 8A). No correlation was

found for the other variables (escape latency: $r_s=-0.29$; $p=0.19$; and total escape duration: $r_s=-0.13$; $p=0.55$).

After the hypoxia test (session 1), mean cortisol concentration was similar to that after restraint, at $501.42 \pm 110.57 \text{ ng.ml}^{-1}$, and was not correlated with the PC1 for the hypoxia test ($r_s=-0.36$; $p=0.2$). However, it was significantly negatively correlated with individual oxygen level at the first passage (Figure 8B; $r_s=-0.73$; $p=0.002$). No correlation was found with the number of returns, time to first passage or escape order, but differences were identified between the HA and HT groups (449.9 ± 106.2 and $560.3 \pm 88.2 \text{ ng.ml}^{-1}$, respectively; MWU, HA vs. HT, $Z=2.08$; $p=0.04$).

Furthermore, a significant negative correlation was found between the plasma cortisol concentrations obtained after the feeding recovery test and after the net restraint test ($r_s=-0.52$; $p=0.046$).

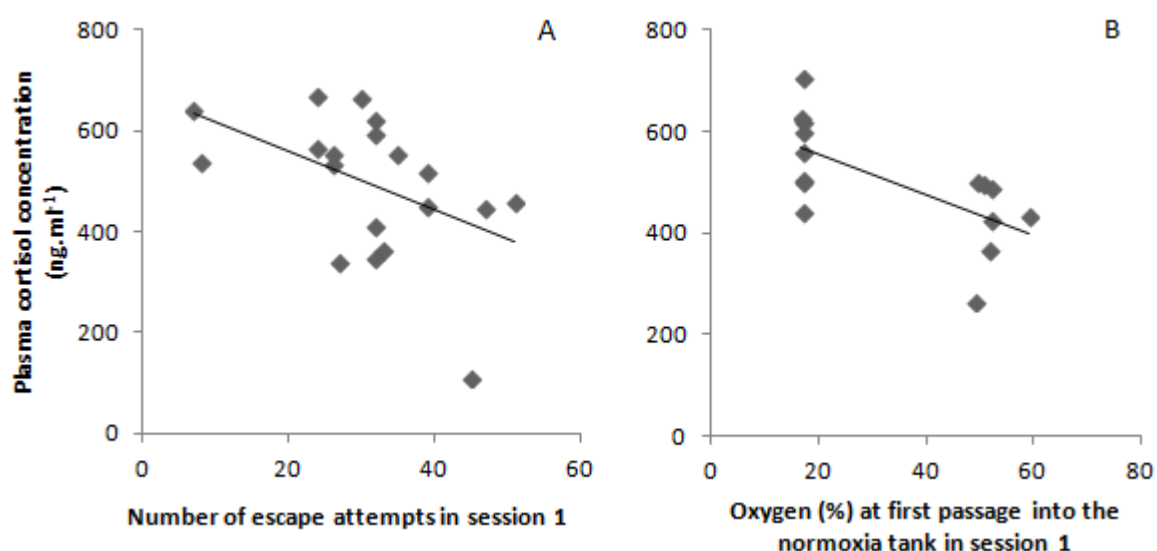


Figure 8 : Link between behavioral and physiological responses; **A** - relationship between plasma cortisol concentration 30 minutes after the net restraint test in session 1 (test 4-1) and the number of escape attempts during the net restraint test in session 1. **B** - relationship between individual oxygen level (%) at first passage into the normoxia tank during the hypoxia test in session 1 (test 6-1) and cortisol concentration at the end of this test.



Table 3: Eigen values, contribution of variables and eigen vector for the 1st axis (PC1) obtained during the PCA analyses in the different behavioural tests.

Behavioural test	Variables	Session 1		Session 2		Session 3	
		PC1_eigen (%)	91.20	PC1_eigen (%)	84.80	PC1_eigen (%)	97.20
		Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector
Feeding recovery	<i>Total feeding score</i>	0.31	0.56	0.33	0.57	0.32	0.57
	<i>Feeding latency</i>	0.33	-0.58	0.30	-0.55	0.34	-0.58
	<i>Total feeding day</i>	0.35	0.60	0.37	0.61	0.34	0.58
		PC1_eigen (%)	38.10%	PC1_eigen (%)	46.10%		
		Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector		
Exploration	<i>Time to entry in open zone</i>	0.19	-0.43	0.22	-0.47		
	<i>Time in open zone</i>	0.11	0.33	0.49	0.70		
	<i>Time in safe zone</i>	0.41	0.64	0.18	-0.42		
	<i>Distance moved</i>	0.29	0.54	0.12	0.34		
		PC1_eigen (%)	60.10	PC1_eigen (%)	63.10	PC1_eigen (%)	63.80
		Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector
Net restraint	<i>Nb attempts to escape</i>	0.45	0.67	0.35	0.59	0.49	0.70
	<i>Latency to first escape</i>	0.12	-0.34	0.30	-0.55	0.04	-0.20
	<i>Total escape duration</i>	0.43	0.66	0.35	0.59	0.47	0.69
		PC1_eigen (%)	72.80	PC1_eigen (%)	66.10	PC1_eigen (%)	52.40
		Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector
Risk taking	<i>Nb return</i>	0.18	0.43	0.37	0.61	0.30	0.55
	<i>Escape order</i>	0.40	-0.64	0.39	-0.62	0.27	-0.52
	<i>Emergence time</i>	0.41	-0.64	0.24	-0.49	0.43	-0.65
		PC1_eigen (%)	75.40	PC1_eigen (%)	81.90		
		Contribution of variables	Eigen_vector	Contribution of variables	Eigen_vector		
Hypoxia	<i>Nb return</i>	0.21	0.46	0.24	0.49		
	<i>Escape order</i>	0.41	-0.64	0.38	-0.61		
	<i>Latency before first passage</i>	0.37	-0.61	0.38	-0.62		

3.4. Cross-context consistency

Cross-context consistency was analysed by determining the mean PC1 for sessions 1 and 2 for each test and comparing these mean PC1 values between the different behavioral tests. No correlation was found between the PC1 values of any of the tests considered (Table 4).

Table 4 : Analyses of cross-context consistency by PCA based on correlations of PC1_s (mean of sessions 1 and 2) between behavioural tests (r_s is the value of the Spearman correlation, $r_{s(N=24)} > 0.476$ would be significant for $\alpha=0.05$ corrected using Bonferroni method using $n=5$ tests).

Cross-context consistency	Feeding recovery	Exploration	Restraint	Risk-taking	Hypoxia test
Feeding recovery	-	$r_s=0.054$	$r_s=-0.08$	$r_s=0.13$	$r_s=-0.06$
Exploration	-	-	$r_s=0.31$	$r_s=-0.26$	$r_s=-0.29$
Restraint	-	-	-	$r_s=0.07$	$r_s=-0.22$
Risk-taking	-	-	-	-	$r_s=0.18$
Hypoxia	-	-	-	-	-



3.5. Individual stability

Sex had no effect on mean CRP (MWU, $Z=1.44$; $p=0.16$), and no difference was found between the two GLMM models tested (Mod1: AIC=271.53 and Mod2: AIC=269.53; $p=1$). Within-individual CRP was no smaller than between-individual CRP. CRPs were not repeatable and were context-specific (Table 5).

Table 5 : Individual coefficients of relative plasticity (CRP_i) for each behavioral test, calculated as described by Réale and Dingemanse (2010). F =female and M = male, NA indicates fish removed from T-maze experiment analyses or fish not tested in all contexts.

ID	Sex	Feeding recovery	Exploration	Net restraint	Risk-taking	Hypoxia
1	F	0.02	0.06	1.31	0.09	0.00
2	M	0.77	NA	0.41	0.53	0.00
3	F	0.03	3.40	0.19	0.24	0.00
4	F	0.62	NA	0.72	1.23	0.35
5	F	0.81	NA	0.05	0.70	1.18
6	F	0.00	NA	0.70	0.56	0.22
7	F	0.69	0.02	0.96	1.24	1.20
8	M	0.29	NA	0.07	0.63	0.03
9	F	2.53	NA	0.61	0.30	0.02
10	M	0.49	0.06	1.46	0.29	0.06
11	M	0.11	0.58	1.41	0.45	0.00
12	F	0.08	NA	0.35	1.17	0.00
13	F	0.99	0.92	0.16	0.05	0.27
14	F	1.68	0.01	0.02	0.08	0.19
15	F	0.23	0.14	1.38	0.11	0.15
16	M	2.45	0.18	1.81	0.68	0.00
17	M	0.65	0.02	0.68	1.64	0.00
18	F	0.79	NA	1.92	0.46	0.00
19	M	3.06	NA	2.21	0.15	1.33
20	F	0.51	0.01	0.34	0.26	0.29
21	M	1.28	0.00	0.00	0.81	0.00
22	M	0.20	0.01	0.89	0.79	0.02
22	M	0.20	0.01	0.89	0.79	0.02
Mean		0.87	0.42	0.80	0.57	0.24
SD		0.83	0.94	0.67	0.44	0.42

4. Discussion

This study provides a first insight into the characterization of coping style in European seabass through the use of individual- and group-based tests, and an assessment of the short- and long-term consistency of behavioral responses.

4.1. Individual - vs. group-based tests in seabass

One of the key findings of this study is the much lower level of individual responses consistency over time observed for the results of tests done in isolated situation (feeding recovery, exploration and restraint) than for those of group-based tests. This may be due to a number of factors, including fish age, learning capacity and species-specific features, such as the gregarious nature of juvenile seabass, gradually replaced by a preference for solitude in adults (Barnabé, 1980; Bas Peired, 2002).

The results obtained for the feeding recovery test in the first session were similar to those obtained for rainbow trout by Øverli et al. (2006, 2007), with a gradual recovery of feeding activity after a period of little or no activity during the first two or three days. However, no consistency over time was observed when this test was repeated. This may have been due to too long a period being left between sessions (*i.e.* 154 days and 265 days), but similar conclusions were reached in the study of gilthead seabream by Castanheira et al. (2013b), in which the interval between tests was only 15 days. Alternatively, the difference in results between the two sessions may be due to changes in fish metabolic rate with age/size. Indeed, young fish have higher metabolic needs than older fish, due to investment in growth (reviewed by Oikawa and Itazawa, 1985), leading them to feed even in isolation. By contrast, older fish have a higher body weight and could fast for longer periods of time, enabling them to avoid eating pellets in front of the experimenter. The use of feeding recovery tests to study behavior consistency in seabass would therefore be difficult. Furthermore, the results of this test were not predictive of cortisol profile in individual fish, precluding further interpretation.

For the exploration test, the results might be accounted for by the interval between sessions 1 and 2 being too long (161 days). However, they may also be due to a technical problem, in that the T-maze is mostly used to test learning rather than exploration *per se*. The use of another type of maze, such as the Z-maze (Chapman et al. 2010), or an open field system with a shelter, would have been more relevant, as shown by Ferrari et al. (2014b).

Finally, in the restraint test, the decrease in the number of attempts to escape from the net between sessions may be accounted for by the ageing of the fish, because session 2 was performed 181 days after session 1. However, even with a shorter time interval between sessions (19 days between sessions 2 and 3), similar to that used by Castanheira et al. (2013b), we found no consistency. Castanheira et al. (2013b) observed an increase in the



number of escape attempts and a high consistency between tests in gilthead seabream, whereas we observed the opposite pattern in seabass, whatever the time interval.

All these results may also be accounted for by species specificity in behavioral responses. In Nile tilapia (Martins et al., 2011b) and rainbow trout (Øverli et al., 2007) for example, feeding recovery studies have shown that proactive individuals recover more rapidly than reactive individuals, conflicting with the results obtained in the studies of gilthead seabream by Castanheira et al. (2013b) and those for HR and LR F5 generation in rainbow trout obtained by (LeBlanc S et al., 2012). Indeed, the way in which individuals respond to various stressors may have many consequences, which are usually context-specific (Brown et al., 2007a). In seabass, cortisol concentration 30 minutes after the restraint test was negatively correlated with the number of escape attempts for a given individual. This finding is in line with coping style theory: individuals with passive responses (reactive) have higher blood cortisol levels after stress than those with an active response (proactive). Our restraint test results are consistent with those of (David et al., 2012) on a passerine (zebra finch, *Taeniopygia guttata*), showing a decrease in escape behavior (called “struggling rate” in their experiment) over sessions and a lack of correlation between sessions. However, they conflict with those of Castanheira et al. (2013b) for gilthead seabream, showing an increase in the number of escape attempts by individuals and a correlation between sessions 1 and 2 but no correlation with cortisol levels. All together, these findings provide evidence for a high degree of species specificity in the behavioral responses observed during restraint tests. Interestingly, the plasma cortisol concentrations obtained 30 minutes after the net restraint test were negatively correlated with those obtained after one week of feeding recovery in isolation. Thus, fish with high cortisol levels after an acute stress (reactive) had low cortisol levels after a chronic stress. The kinetics of cortisol responses therefore seem to differ with coping style and between tests.

Another explanation for the lack of consistency over time in the results obtained for individual-based tests may be the susceptibility of seabass to stress. Indeed, juvenile seabass are known to be gregarious, and social isolation may therefore be highly stressful in this species (Ashley, 2006). As shown by (Fanouraki et al., 2011), seabass may display plasma cortisol concentrations of more than 750 ng.ml⁻¹ in response to acute stress, whereas these concentrations are generally around 300 ng.ml⁻¹ for sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) and gilthead seabream, and less than 50 ng.ml⁻¹ for common dentex (*Dentex dentex*) and meagre (*Argyrosomus regius*). Furthermore, Rotllant et al., (2003) showed in their review that plasma cortisol concentration is higher in undisturbed seabass than in other teleosts, such as salmonids and sparids (usually below 10 ng ml⁻¹). Finally, Gregory and Wood, (1999) and Øverli et al. (2002) showed that appetite may be inhibited by cortisol, potentially accounting for the lack of feeding recovery observed here in older seabass after their transfer into isolation conditions. In conclusion, isolation appears to be a stronger stressor than the other challenges used here in seabass, thereby acting as a masking factor in the tests used.

By contrast to the individual-based tests, all the group-based tests performed in this study gave results that were highly consistent over time.

Our results for risk-taking behavior confirmed those obtained by Millot et al. (2009) for seabass and by Huntingford et al. (2010) for carp. The fish found to take risks were the same in the various sessions and these fish were more active than those that did not take risks, despite differences in escape order. Further, high learning (defined as a change in behavior with experience; Dill, 1983) and memory abilities were observed in these tests. The escape order in the first session can be considered to correspond to risk-taking behavior, but such an assumption does not hold for the second session, as several studies have shown that the intensity of fear decreases as the animal masters the correct response (reviewed by Millot et al., 2009). These findings indicate that seabass can remember events over periods of at least 15 days (memory for more than one month was demonstrated by Millot et al., 2009). Furthermore, individual activity levels were highly consistent over time, and this is considered to be a strong axis of personality (Réale et al., 2007). Activity level (high activity being characteristic of proactive fish) and metabolic rates are also usually correlated, as demonstrated in seabass (Killen et al., 2011b) and other species (Nespolo and Franco, 2007; Careau et al., 2008; Martins et al., 2011a; Herrera et al., 2014). Proactive and reactive individuals differ in terms of their metabolism. The higher metabolic rate of proactive seabass may therefore account for their higher level of activity and their more rapid exploration of new, potentially risky areas than reactive individuals. Similar results have also been reported for seabream (Herrera et al. 2014), in which the time to risk-taking was found to be negatively correlated with both movement and oxygen consumption rates. Risk-avoiders (long times to risk-taking) were thus less active and consumed less oxygen than risk-takers.

In the hypoxia test, the individuals showing the lowest tolerance to hypoxia and highest levels of activity were the same in the first session and in the second session performed 1.5 months later. Furthermore, HA seabass had lower plasma cortisol concentrations than HT fish. As HA fish had lower cortisol concentration, higher levels of activity and took more risks (the 3 characteristics of a proactive coping style), we can argue that HA seabass are proactive individuals. These results conflict with those of Laursen et al. (2011) for rainbow trout, providing another example of species specificity in behavioral responses. They also suggested that reactive trout moved to the normoxia tank due to a strong social dominance of proactive individuals in the home tank (Laursen et al. 2011) and greater sensitivity to environmental changes. We found that there were essentially no aggressive interactions between congeners and so we rejected this hypothesis. One explanation for the differences between our results and those of Laursen et al. (2011) is the use by Laursen et al. of rainbow trout from strains selected for low and high levels of post-stress cortisol release (Pottinger and Carrick, 1999), whereas our seabass were merely domesticated and therefore displayed a behavioral response similar to that of wild individuals. Indeed, some studies have highlighted the importance of studies comparing wild



and selected animals (David et al., 2012), because selection may modify the behavior of individuals (Vandeputte and Prunet, 2002; Bégout Anras and Lagardère, 2004; Millot et al., 2010; Benhaïm et al., 2012b; Stryjek et al., 2012).

HA proactive fish are probably more sensitive to hypoxia, due to their higher oxygen consumption, and have an active response to avoid stressors (“fight or flight”) (Cannon, 1915; Benus et al., 1991; Koolhaas et al., 1999), leading them to escape the hypoxic environment more rapidly than reactive individuals, which are characterized by a passive response (“freeze and hide”) (Engel and Schmale, 1972; Koolhaas et al., 1999). Some fish re-entered sometimes in the hypoxic zone, and these fish were among the first to escape the hypoxic conditions. They were probably frightened of being alone in an enlightened open zone, probably explaining this return behaviour.

Finally, strong individual consistency between sessions was observed for all variables measured in group-based tests. These results may reflect the greater favourability of the group situation for seabass, due to the gregarious tendencies of the juveniles of this species. Such group-based tests should therefore be favoured for the characterization of coping style in seabass.

4.2. Cross-context consistency and individual stability

It remains unclear why no cross-context consistency was observed in seabass, and further investigations are required to resolve this issue. However, many of the behavioral variables assessed are known to be differently expressed in proactive and reactive animals, and the link between physiological and behavioral responses has been clearly demonstrated in both individual- and group-based tests.

Cross-context consistency is not always found, as shown by (Coleman and Wilson, 1998) in their study of exploratory and risk-taking behaviors in pumpkinseed sunfish *Lepomis gibbosus* (L.): individuals are consistent for the two traits, but an individual’s exploration activity is not predictive of risk-taking. As reviewed by (Dingemanse et al., 2010), most of the work on personality in animals has focused on temporal or contextual individual consistency, through the use of repeatability estimates (Bell et al., 2009; Réale et al., 2007).

However, repeatability provides a population estimate that does not in itself provide information about the differences between individuals in behavioral consistency over time or in different situations (Réale and Dingemanse, 2010). As such, when considering individual stability, it is important to distinguish between “between” and “within” (*i.e.* intra) individual variability (see Dingemanse et al., 2010, and Stamps et al. 2012 for the definition of intra-individual variability (IIV)). The high intra-individual variability observed in some fish may account for the lack of consistency over time in individual-based tests, and for the results of our cross-context analysis. No repeatability was observed for the individual coefficient of relative plasticity (CRP). Thus, the fish with the highest levels of plasticity were

not necessarily the same in different tests, and individual plasticity was highly context-specific in this species with a low level of domestication. Furthermore, CRP variation was greater in individual-based tests than in group-based tests, also potentially accounting for the consistency of group-based test results in this species.

5. Conclusions

Overall, our experiments suggest that the group-based risk-taking and hypoxia exposure tests are the most promising for the screening of coping style in seabass. The results of both these tests were consistent over time (in both the short and long term), and the response to hypoxia exposure was also predictive of the cortisol response. These tests are simple to carry out and can be used to screen large numbers of fish, an essential first step towards a possible selection program based on behavioral profile.

Acknowledgements

This research project was supported by the European Commission under the 7th Framework Program FP7-KBBE-2010-4 Contract no. 265957 COPEWELL. The PhD work of Sébastien Ferrari was supported by the *Conseil Général de la Charente-Maritime* and Sandie Millot was funded by the Portuguese *Fundação para a Ciência e Tecnologia* (FCT) grant no. FRH/BPD/72952/2010. The authors would like to thank M. F. Castanheira (CCMAR) for cortisol analyses. Experiments were conducted following approval of the Animal Care Committee of France under the official license of M.-L. Bégout (17-010).



References

- Archard, G.A., Braithwaite, V.A., 2011. Increased exposure to predators increases both exploration and activity level in *Brachyrhaphis episcopi*. *Journal of Fish Biology* 78, 593-601.
- Archard, G.A., Earley, R.L., Hanninen, A.F., Braithwaite, V.A., 2012. Correlated behavior and stress physiology in fish exposed to different levels of predation pressure. *Functional Ecology* 26, 637-645.
- Arends RJ, Mancera JM, Munoz JL, Wendelaar Bonga SE, G, F., 1999. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *J. Endocrinol.*, 163, 149-157.
- Ashley, P.J., 2006. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behavior Science* 104, 199-235.
- Barnabé, G., 1976. Contribution à la connaissance de la biologie du loup, *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson Serranidae). Thèse de Doctorat d'état, mention Sciences, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 426p.
- Barnabé, G., 1980. Exposé synoptique des données biologiques sur le loup, *Dicentrarchus labrax* (Linné, 1758). *Synopsis FAO Pêches* 126, 70 pp.
- Bas Peired, C., 2002. El Mar Mediterráneo: recursos y explotación.
- Bégout Anras, M.L., Lagardère, J.P., 2004. Domestication et comportement chez les poissons téléostéens. *INRA Production Animale* 17, 211-215.
- Bell, A.M., Hankison, S.J., Laskowski, K.L., 2009. The repeatability of behavior: a meta-analysis. *Animal Behavior* 77, 771-783.
- Benhaïm, D., Péan, S., Lucas, G., Blanc, N., Chatain, B., Bégout, M.-L., 2012. Early life behavioral differences in wild caught and domesticated seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Applied Animal Behavior Science* 141, 79-90.
- Benus, R.F., Bohus, B., Koolhaas, J.M., Oortmerssen, G.A., 1991. Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia* 47, 1008-1019.
- Biro, P.A., Beckmann, C., Stamps, J.A., 2010. Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277, 71-77.
- Bolhuis, J.E., Schouten, W.G.P., Leeuw, J.A.d., Schrama, J.W., Wiegant, V.M., 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioral flexibility in pigs. *Behavioral Brain Research* 152, 351-360.
- Brelín, D., Petersson, E., Dannewitz, J., Dahl, J., Winberg, S., 2008. Frequency distribution of coping strategies in four populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Hormones and Behavior* 53, 546-556.
- Brown, C., Braithwaite, V.A., 2004. Size matters: a test of boldness in eight populations of the poeciliid *Brachyrhaphis episcopi*. *Animal Behavior* 68, 1325-1329.

- Brown, C., Jones, F., & Braithwaite, V. , 2005. In situ examination of boldness-shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyrhaphis episcopi*. *Animal Behavior* 70, 1003-1009.
- Cannon, W.B., 1915. Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. New York: Appleton.
- Careau, V., Thomas, D., Humphries, M.M., Réale, D., 2008. Energy metabolism and animal personality. *Oikos* 117, 641-653.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceicao, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013b. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013a. Linking cortisol responsiveness and aggressive behavior in gilthead seabream *Sparus aurata*: Indication of divergent coping styles. *Applied Animal Behavior Science* 143, 75-81.
- Chapman, B.B., Morrell, L.J., Benton, T.G., Krause, J., 2008. Early interactions with adults mediate the development of predator defenses in guppies. *Behavioral Ecology* 19, 87-93.
- Coleman, K., Wilson, D.S., 1998. Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behavior* 56, 927-936.
- David, M., Auclair, Y., Cézilly, F., 2012. Assessing Short- and Long-Term Repeatability and Stability of Personality in Captive Zebra Finches Using Longitudinal Data. *Ethology* 118, 932-942.
- de Boer, S.F., de Beun, R., Slangen, J.L., van der Gugten, J., 1990. Dynamics of plasma catecholamine and corticosterone concentrations during reinforced and extinguished operant behavior in rats. *Physiology & Behavior* 47, 691-698.
- Dingemanse, N.J., Barber, I., Wright, J., Brommer, J.E., 2012. Quantitative genetics of behavioral reaction norms: genetic correlations between personality and behavioral plasticity vary across stickleback populations. *Journal of Evolutionary Biology* 25, 485-496.
- Dingemanse, N.J., Both, C., Drent, P.J., van Oers, K., van Noordwijk, A.J., 2002. Repeatability and heritability of exploratory behavior in great tits from the wild. *Animal Behavior* 64, 929-938.
- Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Réale, D., Wright, J., 2010. Behavioral reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 81-89.
- Dunbrack, R.L., Clarke, L., Bassler, C., 1996. Population level differences in aggressiveness and their relationship to food density in a stream salmonid (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of Fish Biology* 48, 615-622.
- Engel, G., Schmale, A., 1972. Conservation withdrawal: a primary regulatory process for organic homeostasis. *Physiology, emotions and psychosomatic illness*, Elsevier 57-95.
- Fanouraki, E., Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Pavlidis, M., 2011. Species specificity in the magnitude and duration of the acute stress response in Mediterranean marine fish in culture. *General and Comparative Endocrinology* 173, 313-322.
- Fevolden, S.E., Nordmo, R., Refstie, T., Røed, K.H., 1993. Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) selected for high or low responses to stress. *Aquaculture* 109, 215-224.



- Gregory, T.R., Wood, C.M., 1999. The Effects of Chronic Plasma Cortisol Elevation on the Feeding Behavior, Growth, Competitive Ability, and Swimming Performance of Juvenile Rainbow Trout. *Physiological and Biochemical Zoology* 72, 286-295.
- Herrera, M., Castanheira, M.F., Conceição, L.E.C., Martins, C.I., 2014. Linking risk taking and the behavioral and metabolic responses to confinement stress in gilthead seabream *Sparus aurata*. *Applied Animal Behavior Science* 155, 101-108.
- Huntingford, F.A., Adams, C., 2005. Behavioral syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behavior* 142, 1207-1221.
- Huntingford, F.A., Andrew, G., Mackenzie, S., Morera, D., Coyle, S.M., Pilarczyk, M., Kadri, S., 2010. Coping strategies in a strongly schooling fish, the common carp *Cyprinus carpio*. *Journal of Fish Biology* 76, 1576-1591.
- Killen, S.S., Marras, S., Ryan, M.R., Domenici, P., McKenzie, D.J., 2011. A relationship between metabolic rate and risk-taking behavior is revealed during hypoxia in juvenile European seabass. *Functional Ecology* 26, 134-143.
- Koolhaas, J.M., 2008. Coping style and immunity in animals: Making sense of individual variation. *Brain, Behavior, and Immunity* 22, 662-667.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999a. Coping styles in animals: current in behavior and stress-physiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999b. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.
- LeBlanc S, Höglund E, Gilmour KM, S, C., 2012. Hormonal modulation of the heat shock response: insights from fish with divergent cortisol stress responses.
- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D.M., Kadri, S., Huntingford, F.A., 2009. Screening for Coping Style Increases the Power of Gene Expression Studies. *PLoS ONE* 4, e5314.
- Martins, C.I.M., Castanheira, M.F., Engrola, S., Costas, B., Conceicao, L.E.C., 2011a. Individual differences in metabolism predict coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 130, 135-143.
- Martins, C.I.M., Conceição, L.E.C., Schrama, J.W., 2011b. Consistency of individual variation in feeding behavior and its relationship with performance traits in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Applied Animal Behavior Science* 133, 109-116.
- Martins, C.I.M., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2005. The consistency of individual differences in growth, feed efficiency and feeding behavior African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) housed individually. *Aquaculture Research* 36, 1509-1516.
- Martins, C.I.M., Silva, P.I.M., Conceição, L.E.C., Costas, B., Höglund, E., Overli, O., Schrama, J.W., 2011c. Linking fearfulness and coping styles in fish. *PLoS ONE* 6, e28084.

- Millot, S., Bégout, M.L., Chatain, B., 2009. Risk-taking behavior variation over time in seabass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *Journal of Fish Biology* 75, 1733-1749.
- Millot, S., Péan, S., Leguay, D., Vergnet, A., Chatain, B., Bégout, M.L., 2010. Evaluation of behavioral changes induced by a first step of domestication or selection for growth in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach under repeated acute stress. *Aquaculture* 306, 211-217.
- Nespolo, R.F., Franco, M., 2007. Whole-animal metabolic rate is a repeatable trait: a meta-analysis. *Journal of Experimental Biology* 210, 3877-3878.
- Ninkovic, J., Bally-Cuif, L., 2006. The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse. *Methods* 39, 262-274.
- Nunnally, J.C., 1967. *Psychometric Theory*. McGraw-Hill, New York.
- Oikawa, S., Itazawa, Y., 1985. Gill and Body Surface Areas of the Carp in relation to Body Mass, With Special Reference To The Metabolism-Size Relationship. *Journal of Experimental Biology* 117, 1-14.
- Øverli, Ø., Korzan, W.J., Höglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Øverli, E., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004a. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 45, 235-241.
- Øverli, Ø., Korzan, W.J., Höglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Øverli, E., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004b. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 45, 235-241.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Nilsson, G.E., 2006. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? *Physiology & behavior* 87, 506-512.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E., 2007a. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 31, 396-412.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E., 2007b. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 31, 396-412.
- Øverli, Ø., Winberg, S., Pottinger, T.G., 2005. Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Selection for Stress Responsiveness in Rainbow Trout—a Review. *Integrative and Comparative Biology* 45, 463-474.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999. Modification of plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *General and Comparative Endocrinology* 116, 122-132.
- Réale, D., Dingemanse, N.J., 2010. Personality and individual social specialisation. *Social Behavior: Genes, Ecology and Evolution*, 527-557.



- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007a. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 82, 291-318.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007b. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291-318.
- Rexroad, C., Vallejo, R., Liu, S., Palti, Y., Weber, G., 2012. QTL affecting stress response to crowding in a rainbow trout broodstock population. *BMC Genetics* 13, 97.
- Reyes-Tomassini, J.J., 2009. Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Sex Change in the Gilthead Seabream *Sparus aurata*. Biotechnology Institute University of Maryland, 229.
- Rotllant, J., Ruane, N.M., Caballero, M.J., Montero, D., Tort, L., 2003. Response to confinement in seabass (*Dicentrarchus labrax*) is characterized by an increased biosynthetic capacity of interrenal tissue with no effect on ACTH sensitivity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 136, 613-620.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Huntingford, F.A., Øverli, Ø., Thörnqvist, P.-O., Höglund, E., 2011. Response to environmental change in rainbow trout selected for divergent stress coping styles. *Physiology & behavior* 102, 317-322.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Kittilsen, S., Höglund, E., Huntingford, F.A., Sørensen, C., Pottinger, T.G., Bakken, M., Winberg, S., Korzan, W.J., Øverli, Ø., 2008. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: When doves become hawks. *Hormones and Behavior* 54, 534-538.
- Scherrer B (1984) Biostatistique. Chicoutimi, Canada: Gaëtan morin.
- Silva, P.I.M., Martins, C.I.M., Engrola, S., Marino, G., Øverli, Ø., Conceição, L.E.C., 2010. Individual differences in cortisol levels and behavior of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behavior Science* 124, 75-81.
- Stamps, J.A., Briffa, M., Biro, P.A., 2012. Unpredictable animals: individual differences in intraindividual variability (IIV). *Animal Behavior* 83, 1325-1334.
- Stryjek, R., Modlińska, K., Pisula, W., 2012. Species Specific Behavioral Patterns (Digging and Swimming) and Reaction to Novel Objects in Wild Type, Wistar, Sprague-Dawley and Brown Norway Rats. *PLoS ONE* 7, e40642.
- Tveteras, R., Nystoyl, R., 2011. Fish production Estimates & trends 2011–2012 Santiago, Chile.
- van Oers, K., Drent, P.J., de Goede, P., van Noordwijk, A.J., 2004. Realized heritability and repeatability of risk-taking behavior in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271, 65-73.
- Vandeputte, M., Prunet, P., 2002. Génétique et adaptation chez les poissons : domestication, résistance au stress et adaptation aux conditions de milieu. *INRA Productions Animales* 15, 365-371.
- Veenema, A.H., Meijer, O.C., de Kloet, E.R., Koolhaas, J.M., 2003. Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. *Journal of Neuroendocrinology* 15, 256-267.

- Wilson, A.D.M., Godin, J.-G.J., 2009. Boldness and behavioral syndromes in the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, pp. 231-237.
- Wilson, A.D.M., Stevens, E.D., 2005. Consistency in Context-specific Measures of Shyness and Boldness in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ethology* 111, 849-862.
- Wilson, A.M., Whattam, E., Bennett, R., Visanuvimol, L., Lauzon, C., Bertram, S., 2010. Behavioral correlations across activity, mating, exploration, aggression, and antipredator contexts in the European house cricket, *Acheta domesticus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64, 703-715.
- Wolf, M., Van Doorn, S., Leimar, O., Weissing, F.J., 2007. Life-history trade-offs favour the evolution of animal personalities. *Nature*, 581-585.
- Wright, D., Nakamichi, R., Krause, J., Butlin, R., 2006. QTL Analysis of Behavioral and Morphological Differentiation Between Wild and Laboratory Zebrafish (*Danio rerio*). *Behavior Genetics* 36, 271-284.

Synthèse Chapitre 2:

Test comportementaux	Proactifs	Réactifs	Caractéristiques
Test du filet	+	-	Activité
Test hypoxique	-	+	Tolérance à l'hypoxie
Prise de risque	+	-	Audace, Activité
Cortisol plasmatique	-	+	Physiologie

- Les réponses comportementales sont cohérentes dans le temps et corrélées aux niveaux de stress physiologique (cortisol).
- L'existence des coping styles a été démontrée chez le bar.
- Les tests en situation de groupe sont mieux adaptés en raison du caractère stressant de l'isolation chez cette espèce grégaire.

Chapitre 3:

Poster: Personality traits identification based upon hypoxia test and mecano acoustic stimulation in European seabass (*Dicentrarchus labrax*).

Sébastien Ferrari

David Benhaïm

Romain Theysset

Béatrice Chatain

Marie-Laure Bégout

Au vu des résultats de l'article II, il est apparu que le test de tolérance à l'hypoxie semblait être un test relativement efficace pour la caractérisation des coping styles chez le bar. Il est peu coûteux et permet de caractériser un nombre important d'individus dans un temps relativement court. Cependant, le fait que nous n'ayons pas pu caractériser de syndromes comportementaux entre les différents tests réalisés au préalable a soulevé différentes questions : l'absence de syndromes comportementaux était-elle due à notre plan d'expérience ? A une stratégie comportementale populationnelle chez cette espèce ? Était-ce dû aux effets de l'âge, de l'apprentissage, ou bien encore à la spécificité des réponses comportementales comme évoquée dans la discussion du précédent article, ou bien au fait que le bar est une espèce grégaire, et que les tests individuels utilisés représentent des stress trop importants ne permettant pas de discriminer les individus ? Suite à cela, j'ai décidé d'utiliser le test de tolérance à l'hypoxie en groupe, puis d'analyser si les coping styles déterminés à l'aide de ce test pouvaient être prédictifs des réponses comportementales observées lors d'un test individuel de type « introduction soudaine d'un nouvel objet » déjà réalisé chez le bar dans le cadre de la thèse de Sandie Millot. Ce dernier consiste à caractériser les réponses de fuite suite à une attaque simulée de prédateur au moyen d'un stimulus mécano acoustique. Il est apparu lors de précédents travaux utilisant ce test ([Millot et al., 2009b](#)), que les bars montraient une variabilité dans leurs réponses comportementales pouvant être définie comme de l'audace et de l'exploration, ou du moins comme leurs capacités à retrouver une activité normale suite à ce stress. L'idée générale de l'expérience qui suit était donc de réaliser le test de tolérance à l'hypoxie, puis de réaliser le test de stimulation mécano acoustique afin d'analyser les résultats de ce dernier en incluant comme facteur explicatif le coping style des individus tel que caractérisé par leur tolérance à l'hypoxie. L'intérêt de cette expérience est multiple : le test de stimulation mécano acoustique demande énormément de temps (3 heures de test par individu, sans compter la préparation, la pêche et l'identification des bars ainsi que l'analyse) et ne permet donc pas de caractériser un nombre important d'individus. Ici il s'agissait donc de vérifier si le test en groupe pouvait être un proxy des réponses observées dans un test individuel.

Cette étude a fait l'objet de deux présentations sous forme de poster, à la conférence annuelle de la Society of Experimental Biology 2013 à Valence (Espagne), mais aussi à l'International Conference of Aquaculture Indonesia 2014 à Bandung (Indonésie).

Résumé du Poster :

Les traits de personnalité chez les animaux peuvent être définis comme les tendances affectant les réponses comportementales et physiologiques dans différents contextes, variant entre les individus dans une population donnée, étant cohérentes dans le temps entre ces individus et formant des *coping style*. Chez les téléostéens, deux principaux types de *coping style* ont été identifiés : les individus proactifs (réagissent d'une manière active ou audacieuse et ont une réaction de « combat ou de fuite » *fight or flight* en anglais), et les réactifs (réagissent d'une manière passive ou timide, et ont une réponse de type « ne pas bouger ou se cacher », *freeze or hide* en anglais). La caractérisation des traits de personnalité et des *coping style* chez les téléostéens d'élevage peut être utile afin de mieux comprendre les capacités individuelles d'adaptation aux conditions de l'environnement et leur sensibilité aux maladies lors de périodes de stress ceci dans le but d'envisager la réalisation de programmes de sélection incluant la problématique du bien être tout en améliorant le potentiel de production. Cependant, un des problèmes majeurs de la caractérisation des traits de personnalité est que la plupart des tests développés à présent sont des tests individuels (reprise alimentaire en situation d'isolement, exploration et réponse de fuite, test de contention) et la plupart de ces tests sont couteux en temps. Le bar *Dicentrarchus labrax* est une des espèces majeures de l'aquaculture européenne et les effets des premières phases de la domestication ou de la sélection sur la croissance sont peu connus mis à part sur des traits d'intérêts commerciaux classiques. Récemment, des tests en situation de groupe ont été réalisés avec succès pour évaluer le *coping style*, incluant le test de prise de risque et le test de tolérance à l'hypoxie. Dans cette étude, nous évaluons pour la première fois comment un test en groupe (le test de tolérance à l'hypoxie) peut être prédictif des réponses individuelles lors d'une attaque de prédateur simulée (SMA, test de Stimulation Mécano Acoustique). Les principaux résultats sont que les poissons tolérants à l'hypoxie (i.e. réactifs) ont parcouru plus de distance que les poissons évitant l'hypoxie (i.e. proactifs) et ont davantage fait d'entrées-sorties dans les zones les plus éloignées du stimulus. Enfin, il existe une corrélation positive entre le taux d'oxygène lors de la première sortie et la vitesse angulaire ($r_s=0.56$, $p=0.004$) ce qui indiquerait que les poissons proactifs adoptent une nage plus complexe que les réactifs.

Personality traits identification based upon hypoxia test and mecano acoustic stimulation in European seabass (*Dicentrarchus labrax*)

David Benhaïm¹, Sébastien Ferrari²,
Romain Theysset³, Béatrice Chatain²,
Marie-Laure Bégout²

¹: CNAM-INTÉCHMER, France

²: IFREMER, France

³: Hólar University College, Iceland
Corresponding author: david.benhaim@cnam.fr



Introduction:

Animal personality traits can be defined as tendencies that affect behavioural and physiological responses in different contexts, vary across the individuals in a given population, and are consistent within individuals across time [1,2].

In fish, two major personality types also named coping style, have been identified: proactive (active coping or bold or 'fight-flight') and reactive (passive coping or shy or 'non-aggressive'). Identification of personality traits in farmed fish could be useful to better understand individual adaptive capacity to environmental conditions, vulnerability to stress-related disease and to envisage selection programs to optimize production.

However, a major concern in fish personality traits identification is that the majority of tests developed to date are based on individually housed animals (feeding recovery [3], exploration and flight response [4], respirometry [5], restraining [6], and most of these tests are highly time consuming).

The European seabass, *Dicentrarchus labrax* is a major species in Mediterranean aquaculture although little is known about the effects of the early phases of domestication or selection on growth apart from classical traits of commercial interest [7,8].

Recently, tests in group situation were done with success for screening coping style in fish, including risk-taking tests [8] and hypoxia exposure [9,10].

Here we investigated for the first time how a group-based test in seabass (hypoxia test) could be predictive of individual response during a simulated attack predator (MAS : Mecano Acoustic Stimulation).

Experiment and method:

Self sorting by hypoxia in group (N=120):

Previous studies have shown that fish with divergent coping styles react differently to hypoxic conditions [11, 12]. This suggests that allowing fish to escape hypoxic conditions can be used to sort populations in respect to coping style.

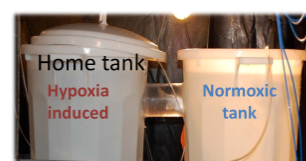


Fig.1. experimental setup used to sort fish group by the hypoxia procedure.

Parameters followed:

- ✓ Escape order
- ✓ O₂ level at first passage (% sat)
- ✓ Emergence score (Fig. 1)
- ✓ Fish escaping from hypoxia tank = Hypoxia Avoiders (HA)
- ✓ Fish staying in hypoxic tank = Hypoxia Tolerant (HT)

Flight response toward a stimulus in isolated situation (N=26):

Fish were individually placed in a 400 l tank. After 2 h of acclimatization, when fish passed under the stimulation zone (zone 1, Fig. 2), the fall of a weight was triggered. Video capture started 20 min before stimulation for a total duration of 1h20. The video recordings were analyzed using the software Ethovision XT (Noldus, the Netherlands) which allowed 4 virtual zones to be defined and to track the fish swimming behaviour.

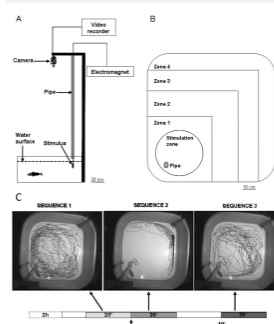


Fig.2. Scheme of the flight-response experimental setup. A : tank and system to elicit the fall of the weight. B : virtual zones defined in the tank. C : example of one fish tracking during the 3 sequences [4].

Parameters followed:

- ✓ Total distance travelled (in cm)
- ✓ Number of entries in each zone
- ✓ Angular velocity (deg/s)

Statistical analyses:

Repeated Measures ANOVA with sequence (16 five-minute periods) as the within-subjects factor and hypoxic status (Hypoxia Tolerant (HT) vs Hypoxia Avoiders (HA)) as between-subject factor were followed by Pearson correlations between oxygen level and angular velocity.

Results and discussion:

Total distance travelled, number of entries in Zone 3 and 4 (Fig. 3) were significantly different between HT and HA ($F_{(12,13)}=2.78$, $p=0.04$, ($F_{(12,13)}=3.8$, $p=0.02$) and ($F_{(12,13)}=3.5$, $p=0.03$ respectively).

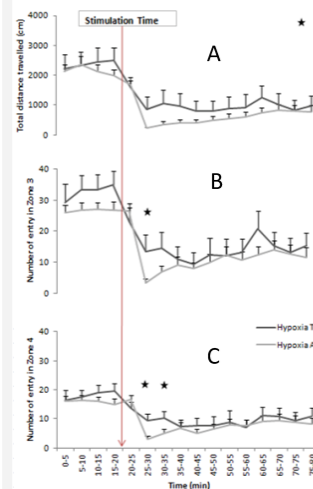


Fig.3. Behavioural variables observed before and after stimulation in the Mecano Acoustic Stimulation experiment. * Newman-keuls posthoc tests, $P < 0.05$.

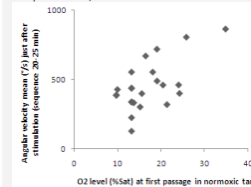


Fig.4. Correlation between angular velocity and O₂ level at first passage in the normoxic tank.

Differences especially occurred just after stimulation : HT showed higher total distance travelled and higher numbers of entries in Z3 and Z4, the furthest zones from the stimulus.

In all cases, both fish categories reacted similarly to the stimulus presentation: the values of these behavioural variables decreased after stimulation which are typical indicators of fish avoidance of a dangerous area and of risk assessment [4] then increased again without reaching levels observed before stimulation showing that fish remained fearful towards the stimulus.

Lastly, there is a significant positive correlation between the O₂ level at first passage in the normoxic tank and angular velocity (Fig. 4, $R_s=0.56$, $p=0.004$).

HT and HA fish show different behavioural responses toward a stressful situation.

Hypoxia test likely reflect individual metabolic needs combined with a risk taking test since we did a control experiment without hypoxia and no fish passed in the normoxic tank.

Higher metabolic needs and activity could be 2 traits of the proactive axis.

Our study highlighted that hypoxia test in group sort fish according to different behavioural responses observed in a Mecano Acoustic Stimulation experiment performed in isolated situation. These findings could be useful to develop a seabass group sorting procedure which is the first step before a potential selection program based on personality traits.

References

1. Réale D, Reader SM, Sol D, McDougall PT, Dingemans NJ (2007) Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 82: 291-318.
2. Sih A, Bell A, Chadwick-Johnson J (2004) Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 372-378.
3. Øverli Ø, Sprensen C, Nilsson GE (2006) Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? *Physiology & Behavior* 87: 506-512.
4. Møller S, Réale D, Chatain B (2009) Exploration behaviour and flight response toward a stimulus in three sea bass strains (*Dicentrarchus labrax* L.). *Applied Animal Behaviour Science* 119: 108-114.
5. Martins CIM, Castanheira MF, Engrola S, Costas B, Conceicao LEC (2011) Individual differences in metabolism predict coping styles in fish. *Applied Animal Behaviour Science* 130: 135-143.
6. Silva PM, Martins CIM, Engrola S, Marino G, Øverli Ø, et al. (2010) Individual differences in cortisol levels and behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behaviour Science* 124: 75-81.
7. Dupont-Nivet M, Vandeputte M, Vergnet A, Merdy O, Haffray P, et al. (2008) Heritabilities and GxE interactions for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree. *Aquaculture* 275: 81-87.
8. Vandeputte M, Dupont-Nivet M, Haffray P, Chavanne H, Canadelli S, et al. (2009) Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. *Aquaculture* 286: 20-27.
9. Castanheira MF, Herrera M, Costas B, Conceicao LEC, Martins CIM (2013) Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8: e62037.
10. Laursen DC, Ørskov H, Ruiz-Gomez MD, Winberg S, Høgland E (2011) Behavioural responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behaviour Science* 132: 211-216.
11. Berlin D, Peterson E, Winberg S (2005) Divergent Stress Coping Styles in Juvenile Brown Trout (*Salmo trutta*). *Annals of the New York Academy of Sciences* 1040: 239-245.
12. Van Raaij MTM, Pijl OSS, Balm PHM, Steffens AB, Van den Thillart G (1996) Behavioral strategy and the physiological stress response in rainbow trout exposed to severe hypoxia. *Behav. Behav. 30, 85-92. Hormone and Behaviour* 30: 85-92.



Thanks and funding

Thanks to Didier Leguay for technical help.
The authors gratefully acknowledge the funding of this work by the European Union, by the county council of Charente Maritime (PhD grant to Sébastien Ferrari), the Conseil Régional de Basse Normandie and the Syndicat Mixte de Cotentin (MSc grant to Romain Theysset, CARCOP project).

Chapitre 4:

Article III: Coping style predicts physiological responses and genes expression in European seabass, *Dicentrarchus labrax*

En préparation



Photo du dispositif utilisé pour trier les individus selon leurs réactions face à des conditions d'hypoxie

Sébastien Ferrari

Sonia Rey

Erik Hoglund

Simon MacKenzie

Alain Vergnet

Béatrice Chatain

Marie-Laure Bégout

L'étude qui suit est directement liée au projet Copewell. Après avoir déterminé les tests les mieux adaptés à la caractérisation du coping style chez le bar (Chapitre 2), nous avons choisi d'utiliser le test de tolérance à l'hypoxie pour caractériser la population de cette expérience qui a servi de matériel biologique pour les tâches du WP1. L'objectif général de cette étude est de mieux comprendre les mécanismes sous jacents de la variabilité interindividuelle, et d'établir des liens entre le coping style, les capacités d'adaptation physiologiques face à des situations stressantes (cortisol, monoamines) et enfin d'explorer les expressions différentielles de gènes (transcriptome) et leur localisation (plasticité des fonctions cérébrales et neuroanatomie). La conséquence de la composante pluridisciplinaire de cette étude et qu'une partie des analyses réalisées par des partenaires du consortium n'est pas encore finalisée au jour du dépôt du manuscrit et induit donc une rédaction partielle des résultats et de la discussion de ce chapitre.

Résumé de l'Article III :

Nous avons déterminé le coping style individuel de 3 groupes de 120 bars marqués et issus pour part égale de deux lignées divergentes sélectionnées pour leur résistance au jeun. Ces groupes ont ensuite été élevés selon les standards recommandés pour cette espèce. Ensuite, 127 jours plus tard, les individus caractérisés initialement en proactifs, réactifs et intermédiaires ont été soumis à un protocole de stress aigu par confinement pendant 30 min. Nous avons prélevé des échantillons sanguins afin de déterminer les taux individuels de cortisol plasmatique soit 30 min, soit 150 min après la fin du stress de confinement. Les individus ont ensuite été sacrifiés afin de prélever différentes parties du cerveau (télencéphale et tronc cérébral) dans l'objectif de doser les monoamines (après 30 min). Sur les individus ayant eu 150 min post stress de confinement, le cerveau entier a été prélevé pour une analyse du transcriptome et la mesure de l'expression différentielle de différents gènes. Les principaux résultats obtenus montrent que dans une population sélectionnée depuis deux générations sur la tolérance au jeûne, les individus réactifs ont une masse corporelle inférieure à celle des individus de coping style intermédiaires, mais ne sont pas différents des individus proactifs. Le test de tolérance à l'hypoxie réalisé 127 jours avant l'échantillonnage s'est révélé être un bon indicateur des réponses physiologiques (taux de cortisol plasmatique). Le stress de confinement appliqué avant l'échantillonnage a entraîné une augmentation générale des concentrations en monoamines dans le télencéphale principalement ainsi que dans le tronc cérébral pour certains neurotransmetteurs seulement. Cependant, le lien entre coping style et réponses neurophysiologiques n'a pas clairement été mis en évidence. L'intervalle de temps entre le stress de confinement et l'échantillonnage n'était probablement pas bien adapté à notre espèce. Ce type d'étude multidisciplinaire représente un design puissant permettant d'approfondir les liens entre variabilité inter individuelle et capacités d'adaptation.

**Coping style predicts physiological responses and genes expression in
European Seabass, *Dicentrarchus labrax*.**

Sébastien Ferrari^{ab}, Sonia Rey Planellas^c, Erik Høglund^d, François Ruelle^e, Marie-Odile Vidal^e,
Alain Vergnet^e, Béatrice Chatain^{be}, Simon MacKenzie^c & Marie-Laure Bégout^a

Correspondence should be addressed to: sebferrari@hotmail.fr

a) Ifremer, Place Gaby Coll, BP7, 17137 L'Houmeau, La Rochelle, France

b) UMR 110 INTREPID, Ifremer-Cirad, 34000 Montpellier, France

c) Marine Biotechnology, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, UK

d) Danish Technical University, DTU Aqua, Institute of Aquatic Resources, Section for Aquaculture, The North Sea Research Centre, , P.O. Box 101, DK 9850 Hirtshals, Denmark

e) Station Expérimentale d'Aquaculture Ifremer, Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-Les-Flots, France

1. Introduction

Biological variability is no longer considered as statistical noise, but rather as an adaptive added-value (Wolf et al., 2007; Castanheira et al., 2013b). This variability comes from consistent individual differences mainly expressed in behavioral and physiological responses, named “coping styles”, “temperament” or “personality” (Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004; Réale et al., 2007). Various behavioral models reflecting coping strategies exist for mammals, birds and teleosts (cichlids, salmonids, sticklebacks and a large number of tropical fish, reviewed in Øverli et al., 2007). Individuals with divergent coping styles can be clustered into two main categories: proactive and reactive individuals. Proactive animals tend to engage in active avoidance or cope with stressful stimuli (Koolhaas et al., 1999; Koolhaas, 2008) through a “fight or flight” response contrary to reactive ones which display a passive behavior through a “freeze and hide” response.

Physiologically, a proactive fish is characterized with lower hypothalamus-pituitary-inter-renal (HPI) activity (de Boer et al., 1990; Øverli et al., 2005; Øverli et al., 2007; Silva et al., 2010) and higher sympathetic reactivity (Øverli et al., 2007) compared to a reactive fish. Therefore, proactive fish typically have lower basal concentrations of glucocorticoids (the principal hormones involved in the stress response and the ultimate product of HPI axis activation) and lower stress-induced glucocorticoids concentrations (Øverli et al., 2007) than reactive individuals. In further details, the main endocrine components of stress are an immediate increase in the release of catecholamines (epinephrine and norepinephrine [NE]) into the circulation, accompanied by increased sympathetic ones, and a slightly delayed (within minutes) increase in the release of glucocorticoid hormones (mainly cortisol in teleost fish) (Øverli, 2001). The monoamines serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT), dopamine (DA) and norepinephrine, have been studied as neurotransmitters or neuromodulators potentially involved in the mediation of physiological as well as behavioral stress responses (Winberg and Nilsson, 1993). The effects of monoamines neurotransmitters are terminated by uptake into presynaptic nerve and possibly glial cells (reviewed in (Winberg and Nilsson, 1993). Following uptake, monoamines are deaminated to their main metabolites by monoamine oxidase (MAO). 5-HT is transformed in 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) and DA in 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC). Both for 5-HT and the catecholamines, the ratio of the tissue concentration of their metabolites to that of the parent monoamine is frequently used as an index of neural activity, increased concentration of the metabolite being taken to indicate increased release and turnover of the neurotransmitter (reviewed in Øverli, 2001; Shannon et al., 1986; Fillenz, 1993).

The release of catecholamine is an integral part of the physiological response to stressors in all vertebrates (Hart et al., 1989). The function of catecholamines includes modulation of respiratory and cardiovascular systems, blood oxygen (O₂) transport capacity, blood glucose and free fatty acid levels. 5-HT has been suggested to stimulate the



hypothalamic–pituitary–interrenal axis (HPI) in teleosts (reviewed in Höglund et al., 2001). Behavioral inhibition in reactive animal has been suggested to be mediated partly by a stress induced elevation of brain serotonergic activity (Winberg et al., 1993a; Winberg et al., 1993b; Øverli et al., 1998). However, less is known about the involvement of brain DA in the regulation of HPI axis activity in teleosts fish (Höglund et al., 2001).

Underpinning the behavioral and physiological characteristics of the two main coping styles described above, there exists a genetic regulation of coping styles at the level of the transcriptome (MacKenzie et al., 2009). It insures correct adaptive response to changing environmental conditions and requires both genetic and epigenetic factors acting in concert. Indeed adaptive responses include a scaled suite of multi-directional regulatory processes, from transcriptome to behavior, in interaction to optimize individual fitness (Rey et al., 2013). A transcriptome or gene expression profile is a collection of mRNAs within a cell, tissue or organism that represents the available transcripts at a specific point in time (Rey et al., 2013) (i.e. phenotype shaped by the organism's genotype). A recent study of (MacKenzie et al., 2009) showed that common carp *Cyprinus carpio* screened for coping style differed in baseline gene expression and show diametrically opposite responses to a immune challenge for 80 % of the genes investigated. This study highlights how differences at transcriptome level are related to adaptive phenotypic variation and that screening for coping style highly increases gene expression interpretation.

Here we present a multidisciplinary study assessing coping styles at the level of behavioral and physiological responses and both neurophysiology and gene expression with the aim to constitute a powerful design to better understand underlying mechanisms related to adaptive phenotypic variation in seabass (*Dicentrarchus labrax*). Seabass are one of the higher commercial value species for European aquaculture, with a current mean European production of about 125,000 metric tons year⁻¹ (Tveteras and Nystoyl, 2011). In addition, seabass domestication is still in its infancy and studying underlying physiological and behavioral responses of fish from divergent coping style should allow improving domestication process and selecting fish with higher adaptation abilities to rearing conditions.

Thanks to previous work (Ferrari et al., Chap 2), we have compared different behavioral tests in this species of interest and retained one test in particular to screen coping style in seabass, the hypoxia test. As previous studies have shown, fish with divergent stress coping styles react differently to hypoxic conditions (Van Raaij et al., 1996; Brelin et al., 2005; Laursen et al., 2011) and Ferrari et al., (Chap 2) showed that the group based hypoxia avoidance test was one of the most relevant to assess coping style in seabass.

The objectives of this study were (i) to screen groups of tagged seabass according to their coping styles using the hypoxia tolerance test and separate them in proactive, intermediate and reactive categories, (ii) to assess physiological and neurophysiological responses of fish from divergent coping styles (blood cortisol and brain monoamines dosing)

both in control fish and after a 30 min confinement stress followed by a 30 min recovery period and (iii) to test for relevant target genes linked to brain expression related to different stress coping styles both in control fish and after a 30 min confinement stress followed by a 150 min recovery period. Taking a comparative evolutionary approach, zebrafish data on target genes for personality were blasted against seabass transcriptome resources. Curated lists of mRNA transcripts were used for primer design and validated using pools of fish whole brain cDNAs with the objective of individual absolute quantification of gene expression on four target mRNAs. Data on gene expression for each individual was correlated with the corresponding behavioral and physiological data obtained in this experiment in order to provide a causal mechanism for the presence of welfare relevant traits correlations in farmed fish by addressing the genetic regulation of coping styles at the level of the transcriptome.

2. Material and methods

The overall protocol followed was to screen PIT tagged seabass using the hypoxia tolerance test and to rear them during four months without changing group composition. At the end of the rearing period and after a stress protocol, blood samples were taken to assess cortisol levels, fish were dissected to sample forebrain and brainstem to quantify monoamines and target genes expression were measured in whole brain.

2.1. Fish and experimental conditions

Fish were hatched and reared at the experimental research station of Ifremer (Palavas-les-Flots, France) according to seabass rearing standard (Chatain, 1994). They came from a second generation of divergent selected strains based on food deprivation resistance (FD- and FD+ strains, Ifremer, see Daulé et al., 2014). Three triplicates of 120 fish (60 FD+; 60 FD- per tank) were used in this experiment. Each triplicate was placed in a 1.5 m³ tank under sand filtered open flow system.

2.2. Growth follow-up

Five biometrics measurements (weight, nearest mg) were carried out starting at 215 days post hatching (dph), 251 dph, 285 dph, and 314 dph and 342 dph (hereafter named BW_215dph, BW_285dph etc...). Growth was estimated using the Specific Growth Rate calculated as follows ($SGR=100*\ln(BW_f)-\ln(BW_i)/t$, in %) with BW_f corresponding to final body weight and BW_i to initial body weight and t corresponded to time in days between two successive weight measurements. Four SGRs were calculated: SGR_P1 (215-251 dph), SGR_P2 (251-285 dph), SGR_P3 (285-314 dph) and SGR_P4 (314-342 dph) where P stands for Period. At the end of the experiment, fish were killed with an overdose of anesthetic for sampling (see following sections) and phenotypic sex was determined according to the



method described by (Barnabé, 1976, in Ferrari et al. 2014). Four fish with undetermined sex were removed from statistical analyses.

2.3. Behavioral screening

Three batches of 120 individuals were screened at 215 dph for hypoxia tolerance (after Laursen et al., 2011; Ferrari et al., Chap.2) in order to assess their coping styles and then placed in three 1.5 m³ tanks. In the hypoxia test, we decreased the oxygen concentration in one of the chambers of a two chambers tank and assessed escape from the hypoxic to the normoxic compartment. The experiments were carried out with two identical circular tanks (70 l, h: 48 cm, diameter: 49.5 cm,) attached to each another via a transparent acrylic pipe (diameter: 11 cm, length: 30 cm, height from bottom: 23 cm) (see Castanheira et al., (2013b) for a detailed diagram of the apparatus). Each tank was considered to be a separate environment individually equipped with oxygen and air supply which were switched off during the trials in the hypoxia tank (see below). Sixty fish were placed in one chamber of the tank (which subsequently became the hypoxia tank) and were allowed to acclimate to the conditions for 30 minutes before the start of the experiment. The hypoxia tank was supplied with nitrogen, to induce hypoxic conditions during the experiment (nitrogen bubbling to decrease oxygen saturation from 90 % to 8 % in 1 hour). The second chamber of the tank, which was supplied with oxygen, is referred to as the normoxia tank. Once an individual escaped from the hypoxic tank into the normoxia tank, it was immediately netted, then placed in a separate tank before being anesthetized (Benzocaine, 200 ppm), tagged with 12 mm ISO PIT tags, measured for weight and replaced in their respective tank. The assignment to the coping styles categories was done as follows. The 20 first fish escaping hypoxic conditions were referred as proactive (P), the ~20 followers were referred as intermediate (I) and the last fish that did not escape hypoxic conditions were referred as reactive (R). The hypoxia test ended when two third of the fish had escaped from the hypoxia tank or when 8% oxygen saturation was reached (water temperature 20°C, salinity 26.9). This operation was repeated until the three triplicates of 120 fish (60 FD+ and 60FD-) were screened. We ended with the following characterization in each tank: Tank 1: 40 P, 39 I and 40 R (one fish died), Tank 2: 40 P, 61 I and 19 R and finally Tank 3: 40 P, 46 I and 34 R.

2.4. Stress treatment

In total 276 fish were sampled at 342 dph (mean weight 89.2 ± 31.8 g) after applying three treatment conditions: Control, Stress1 and Stress2. Fish were fasted 24 hrs prior to sampling. They were anaesthetized directly in their home tank using benzocaine (200 ppm) and gathered in a smaller holding tank. PIT tags were read, then weight were measured and depending on their known coping styles and assigned treatment, fish were dispatched in 9 identical tanks (70 l each: Proactive, Intermediate, Reactive x Control, Stress1 and Stress2). Fish from the Control group were immediately anesthetized using 200 ppm of benzocaine

and blood samples were obtained within 3 minutes, from the caudal vein, with heparinised syringes. Thereafter fish were killed using an overdose of anesthetic and body kept on ice for further dissection. Fish from Stress1 group were placed under confinement during 30 min then allowed to recover during 30 min and were then directly anesthetized for the same sampling procedure as above. Fish from Stress2 group were submitted to the same stress procedure, but allowed 150 min for recovery and then underwent the same sampling procedure.

2.5. Cortisol dosing

In total, 276 fish were sampled for cortisol dosing (46 individuals per coping styles and treatment –Control, Stress1 and Stress2). The blood was centrifuged (5 min at 1500 g) to obtain plasma samples, which were stored at -22°C for further analyses. Plasma cortisol concentration was determined with an ELISA kit (RE52061, IBL, Germany).

2.6. Brain sampling and monoamines dosing

A subset of 10 individuals per coping styles from Control and Stress1 treatment were selected for monoamines dosing. Whole brains were dissected out from each fish and separated into two parts: telencephalon and brainstem. Each brain part was frozen separately in liquid nitrogen and kept at -80°C for later analysis. Before analysis, each frozen brain part was individually weighed. After weighing, the brain part was homogenised in a homogenising reagent (4% perchloric acid, 0.2% Ethylenediaminetetraacetic acid, 40 ng ml⁻¹ dihydroxi benzylamine hydroxide solution). The solvent was then centrifuged at 10,000 rpm at 4 °C for 10 min. The supernatant was assayed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with electrochemical detection to quantify the concentration of 5-HT and its catabolite 5-HIAA, DA and its catabolite DOPAC and norepinephrine NE. The HPLC system consisted of a mobile phase (buffer solution; 10.35 g l⁻¹ sodium phosphate, 0.3252 g l⁻¹ sodium octyl sulphate, 0.0037 g l⁻¹ EDTA, 7% acetonitril in deionised water), a solvent delivery system (Shimadzu, LC-10AD), an auto injector (Famos, Spark), a reverse phase column (4.6 mm 100 mm, Hichrom, C18, 3.5 mm) and an ESA Coulochem II detector (ESA, Bedford, MA, USA) with two electrodes at -40 mV and +320 mV. A conditioning electrode with a potential of +40 mV is used to oxidize possible contaminants before analysis. Brain 5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC and NE were quantified by comparing them with standard solutions of known concentrations and corrected for recovery of the internal standard using HPLC software (CSW, DataApex Ltd, Czech Republic).

2.7 Brain sampling and gene expression

A subset of 20 individuals per coping styles from Control and Stress2 treatment were prepared for whole brain gene expression analysis. Brains were extracted and immediately frozen with liquid nitrogen. Total RNA was extracted from the brain using TriReagent



(Molecular Research Center) following the manufacturer's instructions, and verified for quantity using a NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific) and quality visualized under UV light in a 1% agarose gel containing $1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ethidium bromide. $1 \mu\text{g}$ of total RNA was taken from each individual to synthesize cDNA with SuperScript III RNase Transcriptase (Invitrogen) and oligo-dT primer (Promega). Selected target transcripts were cloned and sequenced. Conventional PCR products were visualised under UV light in a 1.2 % agarose gel containing $1.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ethidium bromide, purified using PCR clean-up Gel extraction MN (Cultek), cloned into pGEM-T Easy Vector (Promega) by T/A cloning and transfected into competent *Escherichia coli* DH5 α TM Competent Cells, Invitrogen (Promega). Plasmid DNA was isolated by Nucleospin Quickpure (Marcherey Nagel). Absolute Quantification RT-qPCR was performed in an Agilent Thermocycler. Absolute number of copies for each mRNA and each individual were obtained and analysed. Thresholds were normalised for all genes with the gene project software

2.8. Data analyses

Analyses of growth were carried out using factorial analyses of variances (ANOVA) with Sex, Strain (FD+, FD-) and Coping style (Proactive, Reactive and Intermediate) as fixed factors after checking for normality and homogeneity of variances. Significant ANOVA were then analyzed using post hoc Newman-Keuls test. Plasmatic cortisol level and brain monoamines concentrations in telencephalon or in brainstem were analyzed using factorial ANOVA with Treatments (Control, Stress1 (for monoamines), and Stress2 (for cortisol)) and Coping style as fixed factor. In order to fulfill the assumption of normal distribution, data on plasma [cortisol], brain [NE], [DA], [DOPAC], [5-HT], [5-HIAA] and ratios of [5-HIAA]/[5-HT] and [DOPAC]/[DA] were log-transformed. For data analysis of gene expression, brain weight and gene copy number were checked with an ANOVA test and a post-hoc Scheffé test was performed for specific significances. A blind analysis on individual gene expression data for the whole subpopulation with a K-means cluster was performed. These analyses were performed with SPSS v19 (IBM®) and Statistica. For correlations between coping styles selected by behavioral screenings and coping styles identified by clustering of individual gene expression, analyses were carried out using factorial analyses of variances (ANOVA) with Sex, Strain and Coping style as fixed factors after checking for normality and homogeneity of variances. In case of non normality or non homogeneity of variances, data were log transformed. Significant ANOVA were then analyzed using post hoc Newman-Keuls test. Other statistical analyses were performed with Statistica for windows (Statsoft, USA).

3. Results

3.1. Growth performances

A sex and coping style effect were observed for BW_215dph ($F_{(1,335)}=48.45$, $p<0.001$ and $F_{(2,335)}=3.57$, $p<0.05$ respectively). Post hoc NK test showed that females had higher BW than males (NK, $p<0.001$) and reactive fish had lower BW than proactive and intermediate fish ($p<0.05$, Figure 1). No strain and no interaction between factors were found significant.

Sex, coping style and strain appeared to have significant effects on BW_251dph ($F_{(1,335)}=44.90$, $p<0.001$; $F_{(2,335)}=3.71$, $p<0.05$ and $F_{(1,335)}=8.39$, $p<0.05$ respectively). Post hoc NK test showed that females had higher BW than males ($p<0.001$), reactive fish had lower BW than intermediate fish ($p<0.05$, Figure 1) but were not different from proactive ones. Finally, post hoc NK test did not show any differences between strains. No significant interactions between factors were observed.

Sex, coping style and strain appeared to have significant effects on BW_285dph ($F_{(1,335)}=36.30$, $p<0.001$; $F_{(2,335)}=5.42$, $p<0.05$ and $F_{(1,335)}=12.26$, $p<0.001$ respectively). Post hoc NK test showed that females had higher BW than males ($p<0.001$), reactive fish had lower BW than intermediate fish ($p<0.001$, Figure 1) but were not different from proactive ones. Finally, post hoc NK test showed that fish from FD+ strain had higher BW than fish from FD- strain ($p<0.05$). No significant interactions between factors were observed.

Sex, coping style and strain appeared to have significant effects on BW_314dph ($F_{(1,334)}=39.26$, $p<0.001$; $F_{(2,334)}=5.47$, $p<0.05$ and $F_{(1,334)}=13.19$, $p<0.001$ respectively). Post hoc NK test showed that females had higher BW than males ($p<0.001$), reactive fish had lower BW than intermediate fish ($p<0.001$, Figure 1) but were not different from proactive ones. Finally, post hoc NK test showed that fish from FD+ strain had higher BW than fish from FD- strain ($p<0.05$). No significant interactions between factors were observed.

Sex, coping style and strain appeared to have an impact on BW_342dph ($F_{(1,334)}=33.24$, $p<0.001$; $F_{(2,334)}=5.21$, $p=0.006$ and $F_{(1,334)}=13.25$, $p<0.001$ respectively). Post hoc NK test showed that females had higher BW than males ($p<0.001$), reactive fish had lower BW than intermediate fish ($p<0.001$, Figure 1) and proactive ones ($p<0.05$, Figure 1). Finally, post hoc NK test showed that fish from FD+ strain had higher BW than fish from FD- strain ($p<0.05$). No significant interactions between factors were observed.

A strain effect was observed on SGR_P1 ($F_{(1,335)}=8.08$, $p<0.05$) and post hoc NK test showed that fish from FD+ strain had higher SGR than fish from FD- strain ($p<0.05$). No other significant effects were observed. No Sex, Coping style or Strain effects were observed on SGR_P2, SGR_P3 and SGR_P4.

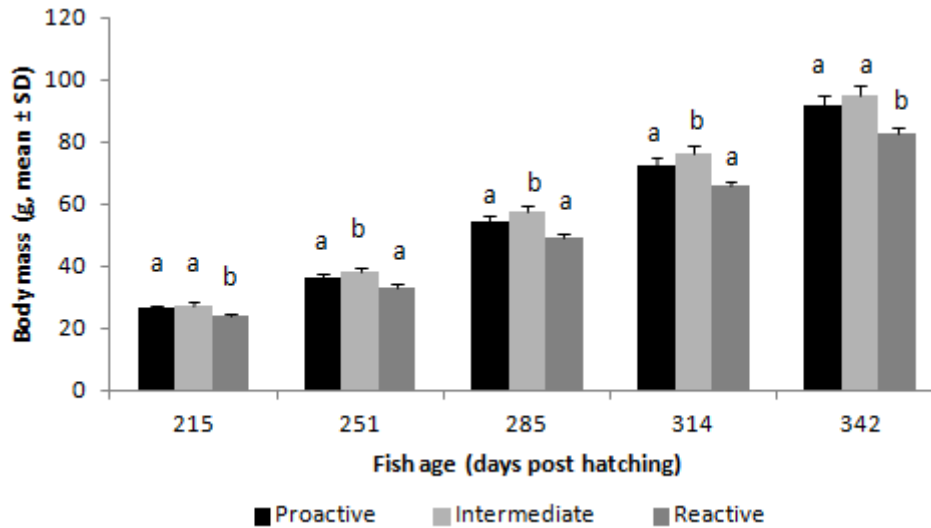


Figure 1: Fish body weight according to age (dph) and coping style (mean \pm SD). Letter indicate significant different between coping styles.

3.2. Physiological status

3.2.1. Plasmatic cortisol

No significant sex effect was observed on plasmatic cortisol concentration for Control, Stress1 and Stress2 groups tested separately ($F_{(1,113)}=2.59$, $p=0.11$; $F_{(1,55)}=0.16$, $p=0.69$ and $F_{(1,55)}=0.41$, $p=0.52$ respectively). Sex factor was then removed from further analyses of plasmatic cortisol concentrations.

No significant strain effect was observed on plasmatic cortisol concentration for Control, Stress1 and Stress2 groups tested separately ($F_{(1,117)}=0.22$, $p=0.64$; $F_{(1,55)}=1.45$; $p=0.23$ and $F_{(1,55)}=0.39$, $p=0.53$ respectively). Strain factor was then removed from further analyses of plasmatic cortisol concentrations.

Plasmatic cortisol concentrations were then analyzed using Treatment (Control, Stress1 and Stress2) and Coping style (Proactive, Reactive and Intermediate) as fixed factors (Figure 2). An interaction between treatment and coping style was observed ($F_{(4,229)}=2.55$, $p<0.05$). Post hoc test showed that Proactive fish from Stress2 group had significantly lower plasmatic cortisol concentrations than Reactive fish from Stress2 group and Reactive and Intermediate fish were not different. Proactive individual from Stress2 had lower plasmatic cortisol concentration than Proactive fish from Stress1 group and Intermediate fish from Stress1 group. However, plasmatic cortisol concentrations were not different for any coping style between Control and Stress1 group. The lowest values were observed for Proactive fish in Stress2 group (561.93 ± 42.80 ng ml⁻¹) whereas the highest values were observed for Intermediate fish in Stress1 group (668.16 ± 33.95 ng ml⁻¹).

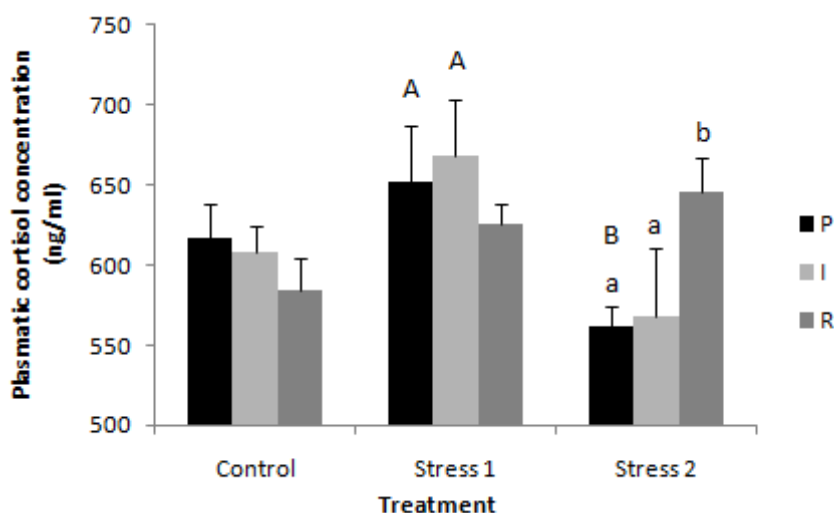


Figure 2 : Plasmatic cortisol concentration according to treatment and coping style (mean \pm SD). I correspond to Intermediate; P to Proactive and R to Reactive coping style. Lower case letters indicate significant differences within treatment and upper case letter indicate significant differences between treatments.

3.2.2. Monoamines concentrations

All monoamines concentrations according to coping style and treatment are shown in table 1.

Telencephalon

[5-HIAA/5HT]

We observed an interaction between coping style and treatment on the ratio [5-HIAA/5HT] ($F_{(2,49)}=4.83$, $p=0.01$, Figure 3). NK Post hoc test showed that fish from Stress1 groups had higher monoamine concentration than fish from Control groups. For Control groups, Intermediate fish had lower concentration than Proactive and Reactive fish. NK test did not show any differences between coping styles for Stress1 groups, but reactive fish tended to have higher concentration of [5-HIAA/5HT] than proactive and intermediate fish.

[5-HIAA]

A treatment effect was significant for [5-HIAA] ($F_{(1,47)}=65.60$, $p<0.001$) and NK Post hoc test showed that fish from Stress1 groups had higher concentration of 5-HIAA than fish from Control groups. A trend was observed for the coping style factor ($F_{(2,47)}=3.0$, $p=0.059$; i.e. reactive fish tended to have higher level) but interaction between factors was not significant ($F_{(2,47)}=1.76$, $p=0.18$).

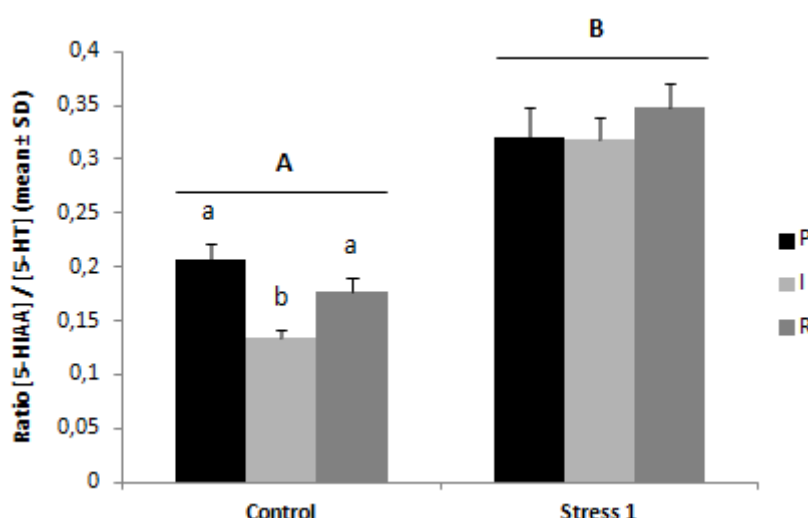


Figure 3 : Mean value of the ratio between the concentrations of [5-HIAA/5-HT] in telencephalon according to treatment and coping style (mean \pm SD). Lower case letters indicate significant differences within treatment and upper case letter indicate significant differences between treatments.

[5-HT]

Neither treatment, coping style nor interaction between factors were significant for [5-HT] ($F_{(1,47)} = 0.025$, $p = 0.876$; $F_{(2,47)} = 0.372$, $p = 0.692$ and $F_{(2,47)} = 0.995$, $p = 0.377$ respectively).

[DOPAC/DA]

Neither treatment, coping style nor interaction between factors were significant for the ratio of [DOPAC/DA] ($F_{(1,49)} = 0.45$, $p = 0.23$; $F_{(2,49)} = 2.04$, $p = 0.14$ and $F_{(2,49)} = 0.004$, $p = 0.99$ respectively).

[DOPAC]

A treatment effect was observed on [DOPAC] ($F_{(1,48)} = 6.69$, $p < 0.05$) and NK Post hoc test showed that fish from Stress1 groups had higher [DOPAC] than fish from Control groups. However, neither coping style nor interaction between treatment and coping style were significant ($F_{(2,48)} = 2.18$, $p = 0.12$ and $F_{(2,48)} = 1.65$, $p = 0.20$ respectively). Proactive fish tended to have higher level of [DOPAC].

[DA]

A treatment effect was observed on [DA] ($F_{(1,48)} = 4.73$, $p < 0.05$) and NK Post hoc test showed that fish from Stress1 groups had higher [DA] than fish from control groups. However, neither coping style nor interaction between treatment and coping style were significant ($F_{(2,48)} = 0.013$, $p = 0.99$ and $F_{(2,48)} = 0.008$, $p = 0.373$ respectively).

[NE]

Neither treatment, coping style nor interaction between factors were significant on [NE] ($F_{(1,49)} = 0.308$, $p=0.582$; $F_{(2,49)} = 0.409$, $p=0.666$ and $F_{(2,49)} = 0.106$, $p=0.899$ respectively).

Brain stem

[5-HIAA/5HT]

Neither treatment, coping style nor interaction between factors were significant for [5-HIAA/5HT] ($F_{(1,47)} = 0.064$, $p=0.802$; $F_{(2,47)} = 1.389$, $p=0.259$ and $F_{(2,47)} = 0.130$, $p=0.878$ respectively).

[5-HIAA]

Neither treatment, coping style nor interaction between factor were significant for [5-HIAA] ($F_{(1,46)} = 0.005$, $p=.942$; $F_{(2,46)} = 0.904$, $p=0.412$ and $F_{(2,46)} = 0.451$, $p=0.640$ respectively).

[5-HT]

Neither treatment, coping style nor interaction between factor were significant for [5-HT] ($F_{(1,46)} = 0.052$, $p=.82$; $F_{(2,46)} = 0.421$, $p=0.659$ and $F_{(2,46)} = 1.053$, $p=0.357$ respectively).

[DOPAC/DA]

A treatment effect was significant for the ratio [DOPAC/DA] ($F_{(1,47)} = 6.816$, $p < 0.05$) and NK Post hoc test showed that fish from Stress1 groups had higher [DOPAC/DA] than fish from Control groups, but neither coping style effect nor interaction between coping style and treatment were significant for [DOPAC/DA] ($F_{(2,47)} = 1.002$, $p=0.375$ and $F_{(2,47)} = 0.840$, $p=0.438$ respectively).

[DOPAC]

A treatment effect was significant for [DOPAC] ($F_{(1,46)} = 4.572$, $p < 0.05$) and NK Post hoc test showed that fish from stress1 groups had higher [DOPAC] than fish from Control groups, but neither coping style effect nor interaction between coping style and treatment were significant for [DOPAC] ($F_{(2,46)} = 0.186$, $p=0.831$ and $F_{(2,46)} = 1.385$, $p=0.260$ respectively).

[DA]

Neither treatment, coping style nor interaction between factor were significant for [DA] ($F_{(1,46)} = 0.000$, $p=0.991$; $F_{(2,46)} = 0.167$, $p=0.847$ and $F_{(2,46)} = 0.406$, $p=0.669$ respectively).

[NE]

Neither treatment, coping style nor interaction between factor were significant for [NE] ($F_{(1,46)} = 0.005$, $p=0.942$; $F_{(2,46)} = 0.492$, $p=0.615$ and $F_{(2,46)} = 0.317$, $p=0.730$ respectively).



Table 1 : Mean concentration of monoamine in the telencephalon and brain stem according to treatment and coping style (mean \pm SD).

Treatment	Telencephalon					
	Control			Stress1		
	Intermediate	Proactive	Reactive	Intermediate	Proactive	Reactive
<i>Monoamines</i>						
5-HIAA/5-HT	0.13 \pm 0.01	0.21 \pm 0.02	0.18 \pm 0.01	0.32 \pm 0.02	0.32 \pm 0.03	0.35 \pm 0.02
5-HIAA	41.34 \pm 2.62	56.60 \pm 4.42	58.97 \pm 4.65	94.36 \pm 8.65	91.25 \pm 7.26	107.45 \pm 8.48
5-HT	303.63 \pm 15.77	277.02 \pm 17.03	341.39 \pm 33.60	294.27 \pm 11.73	352.60 \pm 53.85	306.51 \pm 17.29
DOPAC/DA	0.07 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01
DOPAC	0.64 \pm 0.09	0.97 \pm 0.10	0.82 \pm 0.09	1.03 \pm 0.12	0.95 \pm 0.05	0.92 \pm 0.06
DA	10.27 \pm 0.40	10.36 \pm 0.50	11.25 \pm 0.75	12.25 \pm 0.87	12.88 \pm 1.44	11.31 \pm 0.5
NE	94.39 \pm 10.28	101.04 \pm 6.21	99.13 \pm 7.81	98.20 \pm 8.93	102.28 \pm 7.71	103.92 \pm 7.67

Treatment	Brain stem					
	Control			Stress1		
	Intermediate	Proactive	Reactive	Intermediate	Proactive	Reactive
<i>Monoamines</i>						
5-HIAA/5-HT	0.30 \pm 0.05	0.27 \pm 0.02	0.33 \pm 0.04	0.27 \pm 0.03	0.28 \pm 0.03	0.32 \pm 0.02
5-HIAA	70.80 \pm 16.72	58.75 \pm 11.24	103.92 \pm 21.55	66.69 \pm 15.56	79.60 \pm 16.72	80.17 \pm 15.50
5-HT	224.03 \pm 35.87	206.65 \pm 33.30	286.48 \pm 38.38	231.10 \pm 40.23	260.24 \pm 36.82	238.13 \pm 38.10
DOPAC/DA	0.14 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.20 \pm 0.00	0.28 \pm 0.08	0.19 \pm 0.01
DOPAC	3.68 \pm 0.75	3.48 \pm 0.52	4.65 \pm 0.84	5.11 \pm 1.14	5.57 \pm 0.82	4.55 \pm 0.61
DA	25.36 \pm 4.21	22.49 \pm 3.54	28.48 \pm 4.26	25.58 \pm 5.47	26.21 \pm 4.43	24.88 \pm 3.91
NE	101.24 \pm 18.41	89.48 \pm 17.79	127.42 \pm 23.72	91.58 \pm 20.91	106.37 \pm 22.21	106.72 \pm 17.95

3.2.3. Gene expression

Data treatment ongoing.

4. Discussion

The objectives of this study were (i) to screen groups of tagged seabass according to their coping styles using the hypoxia tolerance test and separate them in proactive, intermediate and reactive categories, (ii) to assess physiological and neurophysiological responses of fish from divergent coping styles (blood cortisol and brain monoamines dosing) both in control fish and after a 30 min confinement stress followed by a 30 min recovery period and (iii) to test for relevant target genes linked to brain expression related to different stress coping styles both in control fish and after a 30 min confinement stress followed by a 150 min recovery period.

4.1. Growth

We observed that fish from the food deprivation sensitive strain (FD+) had higher body weight than FD- fish all along the experiment duration. As demonstrated by (McKenzie et al., 2014), FD+ fish (FS in their study) are able to process meals faster due to their energetic strategy (they use proteins as main fuel source contrary to fish from FD- strain that use more fat as fuel) and so FD+ are able to assimilate more food leading to a higher body weight. FD+ also showed faster growth at least during the first period (from 215 to 251 dph). These strains were selected for food deprivation tolerance, but in our study, fish were fed *ad libitum*, probably explaining why we observed such body mass differences between strains.

We also observed that reactive fish had lower body weight than intermediate fish but were not different from proactive ones all along the experiment duration, except for the last biometric measurement where they were lighter not only than intermediate fish, but also than proactive ones. This is an interesting result which echoes the findings of (Millot, 2008) who observed, when comparing selected *versus* wild strain that proactive seabass from wild population had lower body mass than reactive ones. On the opposite, proactive seabass issued from selected for growth strain had higher body weight than reactive ones. Indeed our fish come from a second generation of selected strain for food deprivation tolerance (FD strain), and we observed that reactive seabass have lower body weight than others. In addition, in chapter 5, we observed that reactive fish from an unselected seabass population (closer to wild fish) have higher body weight than proactive ones, leading to think that hatchery selection and/or domestication process promote growth of proactive coping style, as already observed in salmonids (Sundström et al., 2004; Huntingford and Adams, 2005).



4.2. Plasmatic cortisol

We did not observe any differences in plasmatic cortisol levels between fish from the Control and Stress1 groups. This is once again proving the high susceptibility to stress of this species, and demonstrating that basal cortisol level is not really relevant for this species since any manipulation of the fish leads to an increase of plasmatic cortisol concentration. However, we observed that proactive fish had a lower cortisol level than reactive ones after a longer recovery period (Stress2 treatment). This highlight that proactive and reactive seabass display differential hypothalamus-pituitary-interrenal (HPI) axis activity as already observed in rainbow trout (Pottinger and Carrick, 1999). Further, these results confirm those of Ferrari et al., (Chapter 2) where they observed that proactive seabass had lower cortisol concentration than reactive ones, but also that the kinematics of cortisol responses differed between fish of contrasting coping styles. Hypoxia tolerance test is thus relevant to assess coping style in seabass and predict cortisol response after an acute stress (herein a confinement stress). In our study, fish were screened for coping style 127 days before stress protocol was applied and blood sampling realized, and physiological differences between coping styles were still observed according to coping style at least for plasmatic cortisol. This underlines that cortisol response is relatively stable over time, contrary to some personality traits which could be shaped by an environmental factor (Ferrari et al., submitted – Chapter 7), age or experience (Ferrari et al., Chapter 2).

4.3. Brain monoamines

Most of the brain monoamines tested increased in the telencephalon after the stress treatment, except for [5-HT] and DOPAC/DA. This means that confinement stress lead to an overall increase of brain monoamines concentration. No differences were however observed between coping styles in fish from Stress1 groups, but reactive fish tended to have a higher ratio of 5-HIAA/5HT than proactive and intermediate fish, as also found by (Höglund et al., 2001) in Artic charr (*Salvelinus alpinus*). They observed that subordinate individual (*i.e.* reactive) displayed elevated value of 5-HIAA/5-HT in the hypothalamus. However, they did not found differences in other brain areas.

We observed that reactive fish tended to have a higher 5-HIAA concentration in the telencephalon than proactive fish, but no differences between coping styles were observed in 5-HIAA concentration in the brain stem. These results are in opposition with those of (Øverli et al., 2001) in rainbow trout since they observed that HR trout (*i.e.* reactive) had lower [5-HIAA] in the brain stem than LR trout (*i.e.* proactive). Various stressors have been reported to affect brain 5-HIAA/5-HT ratios (Winberg and Nilsson, 1993) and stress imposed to fish prior to sampling may have affected brain 5-HIAA/5-HT ratios masking the previous effects of stress coping style on ratios in other brain area.

We did not found differences between coping style on DOPAC/DA, these results are in accordance with those of (Øverli et al., 2001) on rainbow trout. However these authors

observed differences between HR and LR trout on [DOPAC] after a confinement stress, with HR trout displaying higher level of [DOPAC]. On the opposite, we did not found statistical differences although proactive seabass tended to have higher [DOPAC] level than reactive fish after a confinement stress.

Finally, links between coping styles and brain monoamines could not be really established in this study. There are different hypotheses to explain that. Firstly, it is possible that some fish may have changed their coping style due to age, experience and social context. Our fish were characterised for coping style about 3 months before the sampling. As demonstrated by Ferrari et al., (Chapter 7), environmental factor such as food predictability can affect coping style as well as age or experience. Secondly, monoamines production results from very precise mechanisms and our characterization is not as precise since only three categories were established in this study. Individual characterization with a continuous score should provide better correlates between stress coping styles and monoamines concentrations. Repeating personality test in order to have clearly distinct coping styles should provide a better understanding of the links between coping styles and neurophysiological stress responses. However, the main bottleneck in this study was that no previous knowledge existed concerning sampling protocols after a confinement stress in seabass. Time interval between stress and brain sampling was probably not adapted to allow clear different responses between coping styles to emerge.

Acknowledgements

This research project was supported by the European Commission under the 7th Framework Program FP7-KBBE-2010-4 Contract no. 265957 COPEWELL. The PhD work of Sébastien Ferrari was supported by the *Conseil Général de la Charente-Maritime*. The authors would like to thank S. Millot for cortisol analyses. Experiments were conducted following approval of the Animal Care Committee of France under the official license of M.-L. Bégout (17-010).



References

- Bell, A.M., Backström, T., Huntingford, F.A., Pottinger, T.G., Winberg, S., 2007. Variable neuroendocrine responses to ecologically-relevant challenges in sticklebacks. *Physiology & behavior* 91, 15-25.
- Brelín, D., Petersson, E., Winberg, S., 2005. Divergent Stress Coping Styles in Juvenile Brown Trout (*Salmo trutta*). *Annals of the New York Academy of Sciences* 1040, 239-245.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceicao, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Chatain, B., 1994. Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*.
- Daulé, S., Vandeputte, M., Vergnet, A., Guinand, B., Grima, L., Chatain, B., 2014. Effect of selection for fasting tolerance on feed intake, growth and feed efficiency in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 420–421, Supplement 1, S42-S49.
- de Boer, S.F., de Beun, R., Slangen, J.L., van der Gugten, J., 1990. Dynamics of plasma catecholamine and corticosterone concentrations during reinforced and extinguished operant behavior in rats. *Physiology & Behavior* 47, 691-698.
- Hart, B.B., Stanford, G.G., Ziegler, M.G., Lake, C.R., Chernow, B., 1989. Catecholamines- Study of Interspecies Variation. *Critical Care Medicine* 17, 1203-1222.
- Höglund, E., Kolm, N., Winberg, S., 2001. Stress-induced changes in brain serotonergic activity, plasma cortisol and aggressive behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is counteracted by L-DOPA. *Physiology and Behavior* 74, 381-389.
- Huntingford, F.A., Adams, C.E., 2005. Behavioural syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behaviour*, 1-15.
- Koolhaas, J.M., 2008. Coping style and immunity in animals: Making sense of individual variation. *Brain, Behavior, and Immunity* 22, 662-667.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011. Behavioural responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behaviour Science* 132, 211-216.
- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D.M., Kadri, S., Huntingford, F.A., 2009. Screening for Coping Style Increases the Power of Gene Expression Studies. *PLoS ONE* 4, e5314.
- McKenzie, D.J., Vergnet, A., Chatain, B., Vandeputte, M., Desmarais, E., Steffensen, J.F., Guinand, B., 2014. Physiological mechanisms underlying individual variation in tolerance of food deprivation in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *The Journal of Experimental Biology* 217, 3283-3292.
- Millot, S., 2008. DOMESTICATION, SELECTION ET COMPORTEMENT DU BAR. Variabilité des aptitudes comportementales et de la tolérance au stress de groupes génétiquement distincts de bar, *Dicentrarchus labrax*. Thèse doc., La Rochelle., 188 pp.
- Øverli, Ø., 2001. Behavioural and neuroendocrine effects of stress in salmonid fish. *Acta Universitatis Upsaliensis*.

- Øverli, Ø., Pottinger, T.G., Carrick, T.R., Øverli, E., Winberg, S., 2001. Brain Monoaminergic Activity in Rainbow Trout Selected for High and Low Stress Responsiveness. *Brain, Behavior and Evolution* 57, 214-224.
- Øverli, Ø., Sorensen, C., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E., 2007. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 31, 396-412.
- Øverli, Ø., Winberg, S., Damsård, B., Jobling, M., 1998. Food intake and spontaneous swimming activity in Arctic char (*Salvelinus alpinus*): role of brain serotonergic activity and social interactions. *Canadian Journal of Zoology* 76, 1366-1370.
- Øverli, Ø., Winberg, S., Pottinger, T.G., 2005. Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Selection for Stress Responsiveness in Rainbow Trout—a Review. *Integrative and Comparative Biology* 45, 463-474.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999. Modification of plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *General and Comparative Endocrinology* 116, 122-132.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291-318.
- Rey, S., Boltana, S., Vargas, R., Roher, N., MacKenzie, S., 2013. Combining animal personalities with transcriptomics resolves individual variation within a wild-type zebrafish population and identifies underpinning molecular differences in brain function. *Molecular Ecology* 22, 6100-6115.
- Sih, A., Bell, A., Chadwick Johnson, J., 2004. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 372-378.
- Silva, P.I.M., Martins, C.I.M., Engrola, S., Marino, G., Øverli, Ø., Conceição, L.E.C., 2010. Individual differences in cortisol levels and behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behaviour Science* 124, 75-81.
- Sundström, L.F., Petersson, E., Höjesjö, J., Johnsson, J.I., Järvi, T., 2004. Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance. *Behavioral Ecology* 15, 192-198.
- Tveteras, R., Nystoyl, R., 2011. Fish production Estimates & trends 2011–2012 Santiago, Chile.
- Van Raaij, M.T.M., Pit, D.S.S., Balm, P.H.M., Steffens, A.B., Van den Thillart, G., 1996. Behavioral strategy and the physiological stress response in rainbow trout exposed to severe hypoxia. *Horm. Behav.* 30, 85–92. *Hormone and Behaviour* 30, 85-92.
- Winberg, S., Nilsson, G., McCarthy, I., Carter, C., Houlihan, D., 1993a. Feeding rank and brain serotonergic activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Exp Biol* 179, 197-211.
- Winberg, S., Nilsson, G., Spruijt, B., Höglund, U., 1993b. Spontaneous locomotor activity in Arctic charr measured by computerized imaging technique: role of brain serotonergic activity. *J Exp Biol* 179, 213-232.
- Winberg, S., Nilsson, G.E., 1993. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 106, 597-614.
- Wolf, M., Van Doorn, S., Leimar, O., Weissing, F.J., 2007. Life-history trade-offs favour the evolution of animal personalities. *Nature*, 581-585.

Partie 2:

Interaction entre traits de personnalité et
comportement alimentaire.

Chapitre 5:

Article IV: First links between self feeding behavior and personality traits in European seabass, *Dicentrarchus labrax*.

Applied Animal Behavior, Volume 161, Décembre 2014, Pages 131-141.



Photo du dispositif d'auto alimentation utilisé pour analyser les stratégies d'approvisionnement en nourriture (Antenne et tige d'activation à gauche et distributeur à droite)

Sébastien Ferrari

Tatiana Colchen

Didier Leguay

David Benhaïm

Béatrice Chatain

Marie-Laure Bégout

Avec ce chapitre commence la seconde partie de cette thèse correspondant à une analyse des interactions pouvant exister entre la personnalité et les stratégies d'approvisionnement en nourriture.

Le fait de pouvoir caractériser la personnalité des individus a donc ouvert de nouveaux terrains de recherche, permettant d'ajouter une dimension supplémentaire à la compréhension et l'interprétation des phénotypes observés. Ceci est donc une opportunité pour revisiter certains domaines de recherche, comme par exemple l'étude du comportement de demande alimentaire. Il se trouve qu'à l'Ifremer en particulier, les bars sont nourris au moyen de distributeurs d'aliments à la demande. Les individus tapent dans une tige en métal ou tirent sur une ficelle reliée à un dispositif et cela entraîne la distribution de nourriture. Ce dispositif, utilisé depuis une à deux décades a donné lieu à de nombreuses études. En effet, il permet l'approche de nombreuses variables telles que les rythmes et les préférences alimentaires ou d'analyser les effets de la domestication et du stress sur le comportement d'alimentation pour n'en citer que quelques uns. Il est apparu au fil des études sur le bar qu'une structure sociale intrigante se formait autour du dispositif, structure différente de celle observée chez les salmonidés. Cette structure s'est avérée cohérente dans toutes les études sur ce modèle. Brièvement, dans un groupe de 50 à 100 individus, seulement 5 % des individus sont responsables de l'activité alimentaire du bassin et nourrissent tous les autres individus. A l'issue des travaux de Sandie Millot, puis de ceux de David Benhaïm, il a été suggéré que ce comportement de demande alimentaire pouvait être en partie lié à la personnalité des individus. L'objectif de la présente thèse étant de caractériser les traits de personnalité du bar, il est apparu évident de tester l'hypothèse d'un lien entre ces derniers et la structure sociale en rapport avec le comportement de demande alimentaire du bar, jusque là encore inexpliquée. Ce fut donc l'objectif de l'expérience qui suit, intitulée : Premiers liens entre le comportement de demande alimentaire et les traits de personnalité chez le bar Européen *Dicentrarchus labrax* dont voici un résumé.

Cette étude a fait l'objet d'une présentation orale à la conférence annuelle de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal en 2014 à Paris (France).

Résumé de l'Article IV:

La plupart des études sur le bar européen réalisées en conditions d'auto-alimentation font état d'une structure sociale se mettant en place autour du dispositif de demande et du distributeur d'aliment, avec trois catégories d'individus coexistant : Les individus manipulateurs principaux (HT), les manipulateurs occasionnels (LT) et les non manipulateurs (ZT). Cependant, ni le sexe, ni la motivation alimentaire, ni un fonctionnement hiérarchique n'expliquent l'établissement de cette structure sociale. Nous avons caractérisé la personnalité de bars au moyen de tests couramment utilisés tels que le test en zone ouvert (*open field test*) et le test de contention (*restraint test*), puis évalué les liens entre les traits de personnalité et les activités individuelles de manipulation sur le dispositif d'auto-alimentation. Les individus manipulateurs ont été caractérisés comme plus timides que les individus manipulateurs occasionnels et non manipulateurs lors du test en zone ouverte. L'activité de manipulation individuelle était négativement corrélée avec les capacités exploratoires et l'audace. Nous n'avons cependant pas trouvé de différences de réponses comportementales lors du test de contention. Cette expérience montre pour la première fois que le statut de manipulateur principal est associé avec des traits de personnalité, expliquant en partie la structure sociale se mettant en place autour de ce dispositif d'auto-alimentation.

First links between self-feeding behavior and personality traits in European seabass, *Dicentrarchus labrax*.

Applied Animal Behavior, Volume 161, December 2014, Pages 131-141.

Sébastien Ferrari^{ad}, David Benhaïm^c, Tatiana Colchen^a, Béatrice Chatain^{bd}, Marie-Laure Bégout^a

Correspondence should be addressed to: sebferrari@hotmail.fr

a) Ifremer, Place Gaby Coll, BP7, 17137 L'Houmeau, La Rochelle, France

b) Station Expérimentale d'Aquaculture Ifremer, Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-Les-Flots, France

c) Cnam/Intechmer, BP 324, 50103 Cherbourg Cedex, France

d) UMR 110 INTREPID, Ifremer-Cirad, 34000 Montpellier, France

Abstract

Most studies carried out with seabass under self-feeding conditions report an intriguing social structure that is built around the device and the food dispenser with three coexisting triggering categories: high-triggering (HT), low-triggering (LT) and zero-triggering (ZT) fish. However, neither sex nor feeding motivation or hierarchy can explain the establishment of this specialization. We characterized the personality of seabass with the commonly used restraint and open field tests and assessed the link between personality traits and individual triggering activity towards the self-feeder apparatus. We found no differences between triggering categories during the restraint test but high triggering fish were characterized as shyer than low- and zero-triggering fish during the open field test. Triggering activity was negatively correlated with exploratory capacities and boldness. This experiment provides for the first time evidence that high triggering status in seabass is correlated with personality traits, which could partly explain the social structure that builds around a self-feeder device.

Key words: Behavior, Boldness, Foraging, Open field test, Restraint test, Teleost.

1. Introduction:

Self-feeder devices have been widely used with Teleost fish (Covès et al., 2006). They have been developed primarily to allow fish to obtain food according to their nutritional needs, resulting in more robust growth, lower food wastage (Covès et al., 2006) and higher water quality. Previous studies have shown that several fish species demonstrate a great ability to use such systems and a high plasticity when facing the triggering device (e.g. a metal rod protected or not in a PVC cylinder). Individual can push, pull, bite (Covès et al., 2006) or even use a dorsally attached external tag (Millot et al., 2014) to actuate the trigger which delivers food for the entire group. These devices allow the assessment of numerous variables such as apparent group feed demand and consumption (when uneaten food is counted); feeding activity and feeding rhythms in Arctic char *Salvelinus alpinus*, and European seabass, *Dicentrarchus labrax* (Boujard et al., 1996; Jobling et al., 2001; Rubio et al., 2004; Covès et al., 2006); circadian rhythms in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Alanärä, 1992b; a; Boujard and Leatherland, 1992; Alanärä, 1996; Chen et al., 2002), and feed preferences in seabass (Paspatis et al., 2002). Such device also allowed to evaluate the effects of fasting in seabass (Echevarria et al., 1997; Aranda et al., 2001; Benhaïm et al., 2012a), Olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Miyazaki et al., 2000) or Barramundi *Lates calcarifer* (Tian and Qin, 2003); and the effects of domestication and selection on behavior in seabass (Millot et al., 2011). Self-feeder devices have been used recently in Atlantic cod *Gadus morhua* (Millot et al., 2012) and lead to the discovery of innovative behavior (Millot et al., 2013). They were also used to assess the effects of dopaminergic system activation on feeding behavior in seabass (Leal et al., 2013). When coupled with a computer and a PIT tag detection antenna, self-feeder devices enable the study of the individual behaviors of fish living in groups of seabass (Covès et al., 2006), as well as the assessment of changes to social structure of the group (Di-Poï et al., 2008; Millot and Bégout, 2009).

Indeed, most studies report the existence of a social structure built around the device and the food dispenser. For example, social hierarchies have been observed in salmonids, such as Rainbow trout, (Alanärä and Brännäs, 1996; Alanärä et al., 1998), or Arctic char, (Alanärä, 1993; Brannas and Alanara, 1993), with dominant fish taking position near the feeder and the dispenser. These authors identified three fish categories (dominants, sub-dominants and subordinates) and showed that social rank was directly correlated with self-feeding device triggering activity. Dominant fish had the highest actuation level, followed by sub-dominants and then subordinates, resulting in higher specific growth rates for dominant fish.

The European seabass is a high commercial value marine teleost and a model species of Mediterranean aquaculture. The average worldwide aquaculture production of this species since 2007 is estimated at 125,000 metric tons per year (Tveteras and Nystoyl, 2011). Numerous studies have shown that seabass can learn to actuate the trigger of a self-feeder apparatus (Anthouard et al., 1986; Sánchez-Vázquez et al., 1994; Boujard et al., 1996;



Azzaydi et al., 1998; Covès et al., 1998; Sánchez-Vázquez et al., 1998; Rubio et al., 2004). However, no dominance-subordination relationships have been observed in this species (Covès et al., ; Di-Poï et al., 2008; Millot et al., 2008; Millot and Bégout, 2009; Benhaïm et al., 2012). Following work done on salmonids, Covès et al. (2006) have kept the terminology 'social structure' based on triggering activity and Di Poi et al. (2007) proposed a producers-scroungers social organization instead of a hierarchical one. This term is hence linked to an individual specialization among the group: some high-triggering fish that could play the role of producers and zero or low-triggering fish playing the role of scroungers. This has been also observed in other animals such as insects and birds (Giraldeau and Beauchamp, 1999; Coolen et al., 2001). In seabass, three categories: High Triggering (HT), Low Triggering (LT) and Zero Triggering fish (ZT) have been defined and the proportions of these categories vary according to different studies. One or two individuals were responsible for 80% of triggering activity in a small population (50-100 individuals) over a 60 day period under a reward regime of 1 or 2 pellets per individual given at each actuation (Covès et al., 2006), whereas two or three fish were responsible for about 45 % under a reward of one pellet per individual (Millot et al., 2008). The rest of the population could be divided into two groups: LT fish were responsible for 19-26% of the triggering activity and ZT fish triggered less than 2 % of total actuation events (Di-Poï et al., 2008).

Several studies have shown that seabass from different triggering categories do not differ in initial or mean growth rate, or in mean initial and final body weight (Covès et al., 2006; Di-Poï et al., 2007; Di-Poï et al., 2008; Benhaïm et al., 2012). In addition, fish from the different categories are not physiologically different (as measured by blood variables (Millot and Bégout, 2009; Benhaïm et al., 2012)); and Covès et al. (2006) and Benhaïm et al. (2012) reported that there is no difference in sex ratio between the categories. Therefore, in contrast with salmonids, there are no obvious explanations for this social structure in European seabass. Although Millot et al. (2008) showed a favourable growth window when fish were HT, feeding motivation as triggered by a fasting period was not correlated with triggering activity (Benhaïm et al., 2012). However, Benhaïm et al. (2012) suggested that triggering activity is linked to personality traits and further perspectives could arise. On one hand this could provide a determinant of such triggering activity towards a causative explanation and on the other hand, as an applied perspective, this could enable manipulating population to favour the presence of more HT fish leading to better structured population achieving better growth.

The number of studies on personality traits and coping styles has increased in recent years, and these studies have provided some explanations for the adaptive value of individual variation in behavior (Wilson et al., 1994; Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004a; Réale et al., 2007; Wolf et al., 2007; Dingemanse et al., 2010b). Animal personality or coping style can be defined as a correlated set of individual behavioral and physiological characteristics that are consistent over time and across situations (Wilson et al., 1994; Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004a). It covers numerous traits, such as boldness and

shyness (willingness to take risks), avoidance of novelty, exploration, activity, aggressiveness and sociability (Réale et al., 2007). One of the main aspects of personality is the boldness-shyness continuum. According to Coleman and Wilson (1998), individuals from a fish population can be categorized into three sub-groups based on their predisposition to take risks: bold, intermediate and shy. Usually, boldness is associated with a proactive strategy contrary to shyness that is associated with a reactive strategy. Bold fish take more risks and explore their environment faster (less cautiously) when exposed to novelty (Øverli et al., 2006b; MacKenzie et al., 2009). In contrast, shy individuals tend to be risk averse and are generally neophobic (Verbeek et al., 1994; Wilson et al., 1994), show a higher behavioral flexibility (Bolhuis et al., 2004) and are more responsive to their environment (Verbeek et al., 1994). Intermediate fish are in the middle of these two extremes.

There are standard methods for measuring boldness in fish (Brown et al., 2007), such as the latency to leave a safe area to explore a novel, less safe area (Budaev et al., 1999a; b; Fraser et al., 2001; Brown et al., 2007; Biro et al., 2010; Eriksson et al., 2010). Among numerous behavioral tests assessing boldness, the open field test (Budaev et al., 1999a; b; Yoshida et al., 2005) or the restraint test/confinement test (Silva et al., 2010; Castanheira et al., 2013b) are widely used and were chosen. In this study, we aimed to explore the link between the social structure that builds around a self-feeder device and personality traits in European seabass. We characterized individual personality traits and assessed the links with individual triggering activity under group self-feeding conditions.

2. Materials and methods

2.1. Fish and experimental conditions

Fish were hatched and reared at the experimental research station of Ifremer (Palavas-les-Flots, France) according to seabass rearing standards (Chatain, 1994). A sample of 600 fish was transported at 86 days post hatching (dph) on 06/04/2012 to the Fish Ecophysiology Platform of La Rochelle (PEP, <http://wwz.ifremer.fr/pep>, France). After 8 days of acclimatisation, a sub-sample of 200 fish (0.86 ± 0.28 g in mass (mean \pm standard deviation (SD))) was distributed (50 fish per tank) in four 400 L tanks (T1 to T4) located in a dedicated room. At 257 dph, the fish, now weighing 15.26 ± 5.00 g, were tagged with 12 mm conventional PIT tag to monitor each fish individually using a self-feeder equipped with PIT tag detection antenna. The four 400 L tanks were supplied with sand filtered seawater in a recirculated system (flow rate of $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ in each tank, and 15 % water renewal per day). Tanks were surrounded by an opaque black curtain to avoid any disturbance to the fish. A white light (Philips, 80W) was suspended above each tank. The light cycle was controlled (14 hours day/ 10 hours night) throughout the experiment. The physico-chemical properties of the water were monitored daily to guarantee optimum conditions. Water temperature was maintained at 20.6 ± 0.3 °C, O₂ saturation at 75.4 ± 8.9 % and salinity at 26.9 ± 0.9 g L⁻¹.



Ammonia, nitrite and nitrate concentrations were lower than 0.05 ± 0.05 , 0.13 ± 0.06 and $0.97 \pm 0.11 \text{ mg L}^{-1}$, respectively.

Fish were hand fed with commercial food (first with INICIOplus (BIOMAR®, France) of increasing pellets size when fish were between 0.86-15 g then with Neo Start 3 mm, Le Gouessant aquaculture, France) until the self-feeder devices were installed at 268 dph and delivered the same food (Neo Start, 3 mm).

2.2. Food demand behavior and self-feeder apparatus

The device to operate the feeder comprised a screened type sensor (a metal rod protected in a PVC cylinder surrounded by the tag detection antenna, Covès et al. (2006)), and a control box linked to a computer. After each actuation, fish were rewarded with pellets (at least one per fish) and feed dispensers were regulated to distribute always the same quantity of food, which corresponded to a mean of $1.75 \pm 0.19 \text{ g}$. The reward level was a compromise between minimizing wastage, and optimizing feed allocation to the group. Such a set up allowed us to monitor two variables of interest on a daily basis: the individual feed demand behavior and the apparent feed consumption of the group (i.e. one group per tank). The apparent feed consumption of the group was calculated from the food quantity dispensed minus the waste collected in the sediment trap and counted. Triggering activity recordings were done continuously except before and during fish biometry sessions (triggers were inactivated and there were no recordings for 48 h at each biometry session).

Feed demand behavior was followed over 131 days from 268 dph to 399 dph. This duration was chosen to be more than double the duration of the period that an individual held high-triggering status (63 ± 16 days on average) as demonstrated by Millot and Bégout (2009) in order to observe a clear status acquisition in HT fish. For each day, the triggering activity was recorded and the quantity of food distributed in each tank calculated.

2.3. Evaluation of biological performances

The growth of all fish was followed from 257 dph to 391 dph. Biometric measurements were performed at 257 dph, at 303 dph, at 335 dph, at 369 dph, at 391 dph at 430 dph. We performed a last biometry at 430 dph in order to gather the individual body length information to convert “total distance travelled” in the open field test to body – length (BL). This last biometry was not taken into account for analyses of growth (body mass and SGR) since behavioral tests could impact fish growth. The variables chosen to evaluate biological performances within periods (i.e. in between biometric measurements) were the following: body mass (BM, g) and specific growth rate (SGR (% of mass per day) = $100 (\ln \text{BM}_f - \ln \text{BM}_i) / t$, where BM_f and BM_i are the initial and final body mass (g), respectively and t is the number of total days). SGR were compared according to triggering category only in fish of interest selected for behavioral tests and during the food demand monitoring (from

257dph to 391 dph; *i.e.* five biometric measurements). At the end of experiment, all the fish were killed and their sex determined following Ferrari et al. (2014).

2.4. Characterization of triggering categories

Fish were characterized according to their triggering activity. They were classified into three categories by calculating each individual's contribution each day to the total number of trigger actuations within the tank (%) and then we averaged daily contribution across the whole duration of the experiment (131 days). As reviewed in Benhaïm et al, (2012), the percentage of triggering for each category (HT/LT/ZT) is extremely variable according to authors but the proportion of fish in each category remains the same. As the most important is to categorize fish according to consistency of the triggering activity, here we chose: High-triggering HT ($\geq 8\%$ of total actuations), Low-triggering LT ($< 8\%$), and Zero-triggering ZT ($< 2\%$).

2.5. Characterization of personality traits

Once each individual was attributed a triggering category, we could determine the number of HT fish, take randomly the same number of fish belonging to LT or ZT and characterize them using a restraint and an open field with a shelter tests to assess individual boldness and exploration. Both tests were carried out on the same individuals.

2.5.1. Restraint test

A restraint test was performed at 423 dph. For each tank, all fish were caught, identified and selected fish isolated in buckets. Just before running the test, they were gently placed by hand in an emerged net (Europet Bernina [®], 15 cm) fixed on a holder for 3 min (adapted from Silva et al., 2010; Martins et al., 2011; Castanheira et al., 2013b) and their behavior was video recorded (Ethovision XT recording, Noldus, The Netherlands; camera Ikegami CD48E ; 2.8 - 12 mm Computar[®] lens). After the tests, all individuals were placed back in their respective tanks. Individual behavior was analyzed with the “manual scoring” module of Ethovision XT. Individual variables of interest were calculated for the whole duration of the 3 min test and were “latency before first escape attempt (s)”, “total escape duration (s)” and “number of escape attempts”. An escape attempt was defined as an elevation of the body in the net.

2.5.2. Open field test

An open field test (OFT) was performed at 433 dph. For each tank, all fish were caught, identified and selected fish placed together in a smaller tank before being challenged. The open field (72 * 72 cm with a water height of 18 cm) was divided into two virtual zones (border and centre, Figure 1) and a shelter (opaque PVC box 18 * 18 * 18 cm closed by a vertically sliding trapdoor) was placed in one corner of the open field. The centre zone was considered as a risky area since thigmotaxis (staying close to the walls of an arena)



is a common measure indicating increased shyness in this test (Maximino et al., 2010; Dahlbom et al., 2011). The whole setup was placed on an infrared floor (IR floor 1 × 1 m, Noldus, The Netherlands) to prevent the reflection of light. The whole experiment was video recorded at 25 frames per second (Ethovision XT recording, Noldus, the Netherlands; camera Ikegami CD48E; 2.8 - 12 mm Computar® lens equipped with an IR filter). Selected fish were individually placed in the shelter. After a 5 min acclimatization period, the door was gently opened. If the individuals did not go out of the shelter within 20 minutes following the acclimatization time, the experiment was stopped and a latency of 1200 seconds was attributed. If the fish went out of the shelter, it was allowed to explore the open field for 20 minutes. Variables of interest were extracted over the whole 20 min period with Ethovision XT and were as follows: individual “latency to emerge from the shelter (s)”, “in shelter duration (s)”, “time spent in centre zone (s)”, “time spent in border zone (s)”, “total distance travelled (body length, BL)”, “mean distance from the shelter (cm)” and “number of returns to the shelter”. For each individual, distance travelled was divided by fish body length (BL in cm) to standardize values and avoid bias due to variation in fish size.

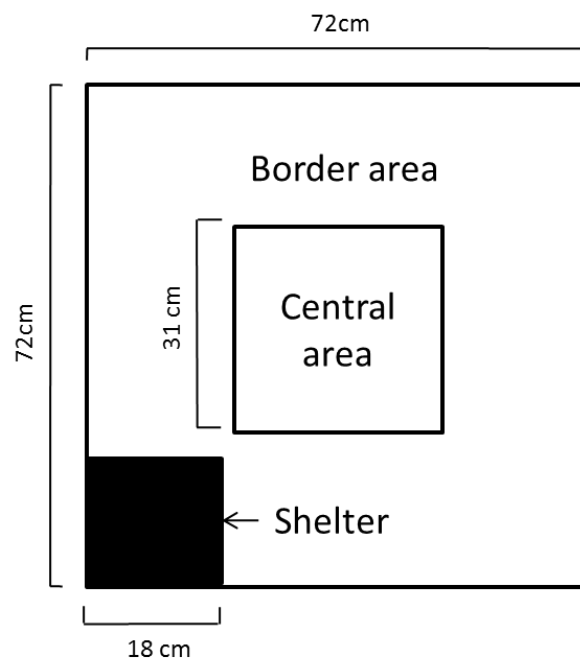


Figure 1 : Scheme and dimensions of the open field apparatus.

2.6. Data analysis

After verification of distribution normality and homoscedasticity (Dagnélie, 1975), individual body mass of all fish were compared between tanks at the beginning (257 dph)

and at the end of the feeding follow-up (391 dph) by one way ANOVA with Tank as a fixed factor.

For personality tests, the sample size was determined by the number of HT fish (N=10 HT in total when all 4 tanks were pooled) and the same number of LT+ZT fish was selected (N=10, LT+ZT because it was not possible to test more than 20 individuals in the same day). Body mass of selected fish (N=20 in total) were compared using a Mann-Whitney (MW) test. The SGR of these selected individuals were compared by Repeated-Measure ANOVA with triggering category (HT *versus* LT+ZT) as a between-subjects factor and date (four dates) as a within-subjects factor. Body mass and SGR are given as mean \pm SD unless otherwise stated. Average food demand per tank was analysed by ANOVA with Tank as a fixed factor. The proportion of individuals and sex ratio per triggering category between tanks was analysed by a Chi square test. All variables of interest from both tests were compared between the triggering categories (HT *versus* LT +ZT) using a Mann-Whitney.

The links between individual triggering activity (“individual percentage of actuation”) and individual responses observed in the variables from the restraint and open field tests were assessed by non parametric Spearman’s correlation on rank order due to small sample sizes. This strategy was chosen to take advantage of the continuous nature of all the variables and because using correlation to assess personality traits is actually a usual method (Martins et al, 2011, 2012; Herde & Eccard, 2013; Magnhagen et al, 2004; Castanheira et al, 2013a, b). For the open field test, fish that did not go out of the shelter were removed from analyses, except for the variable latency to emerge from the shelter. All analyses were performed with Statistica7 (Statsoft) with a threshold for significance of $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Growth, sex ratio and social structure around the self-feeder

Eight fish belonging to LT+ZT category died over the experiment duration, representing 4 % of the population. Body mass at the beginning of the experiment was 15.50 ± 4.99 g (257 dph) and 47.54 ± 15.22 g at the end (391 dph). There were no differences in initial body mass between tanks ($F_{(3,203)} = 1.8$, $p = 0.144$). However, there was a difference in final body mass ($F_{(3,198)} = 5.6$, $p < 0.001$) and Tukey HSD post hoc test showed that body mass was significantly lower in T4 (36.12 ± 11.78 g) than in T1 (51.41 ± 14.03 g) and T2 (50.73 ± 16.34 g) ($p < 0.001$ and $p < 0.05$, respectively), but not different than T3 (45.92 ± 14.37 g).

Triggering categories showed differences in initial body mass (24.49 ± 9.13 g for HT and 17.38 ± 4.08 g for LT+ZT) and this was true all along the experiment duration (RM-ANOVA, $F_{(1,18)} = 4.73$, $p = 0.04$). However, no differences were observed on SGR all along the experiment duration (during the first period SGR was 0.81 ± 0.26 for HT (N= 10) and $0.79 \pm$



0.23 for LT +ZT fish (N=10); during the last period SGR was 0.78 ± 0.20 for HT fish and 0.83 ± 0.20 for LT+ZT fish (RM-ANOVA, $F_{(1, 18)} = 0.36, p=0.56$). Average food demand over the whole feeding follow-up period (131 days) for tank one, two, three and four were 0.80 ± 1.10 ; 1.19 ± 1.60 ; 1.23 ± 1.38 and $0.97 \pm 1.29 \text{ g.kg}^{-1}$, respectively. Food demand was different between tanks (ANOVA, $F_{(3, 3348)} = 17.6$; $p < 0.001$), and tanks 1 and 4 had significantly lower food demand than tanks 2 and 3 (Tukey HSD Post-hoc, $p < 0.001$). We observed no food wastage in any tank and we observed a similar rhythm in feeding activity in all tanks, with a peak between 08:00am - 10:00am and between 19: 00pm-22: 00pm. Sex ratios were similar between tanks ($68.7 \pm 12.9\%$ of males). Social structure was as follows: most fish were ZT (72.7% in T1, 74.0% in T2, 66.7% in T3 and 78.0% in T4); LT fish represented 21.8% in T1, 22.2% in T2, 27.4% in T3 and 16.0 % in T4; and HT fish accounted for 5.4% in T1, 3.7% in T2, 5.9% in T3 and 6.0% in T4 (no significant difference between tanks: $\chi^2=2.319, p=0.88$). On average over all tanks, ZT, LT and HT categories represented respectively $72.9 \pm 4.7\%$; 21.9 ± 4.7 and $5.2 \pm 1.1 \%$ of individuals in tanks. According to the tank, there were two or three HT fish responsible for about 45 % of the total number of actuation. Over the whole experiment duration, the mean percentage of actuation was 15 % (range 8-35) for HT fish, 4% (range 3-7) for LT fish and 0.6 % (range 0-2) for ZT fish. Sex ratio was not different between triggering categories ($\chi^2= 1.37, p > 0.05$).

3.2. Responses to personality tests

All variables from both tests (Restraint and OFT) and corresponding values (mean \pm SD; range (min-max)) are presented in Table 1. This table shows the pronounced inter-individual variability in all behavioral variables tested. In the restraint test, HT fish tend to escape less from the net than LT +ZT fish (Table 1), but this was not statistically different (MW, $Z= 0.14, p=0.89$) due to the pronounced inter-individual variation. Same results were observed for total escape duration (Table 1; MW, $Z=-0.05, p=0.96$). However, HT fish tended to have higher latency before first escape attempt than LT+ZT (Table 1) but this was again not significant (MW, $Z=-0.27, p=0.79$). In the OFT, HT fish tended to have higher latency to emerge from the shelter than LT+ZT fish (Table 1), but this was not statistically different (MW, $Z=-1.63, p=0.10$). The time spent in shelter tended to be higher for HT fish (Table 1) but was not statistically different (MW, $Z=-1.81, p=0.07$). HT fish tended also to spent less time in central and border area than LZ +ZT fish (Table 1), but this was still not statistically different (MW, $Z=1.08, p=0.28$ and $Z=1.18, p=0.24$). HT fish tended to be less active (Distances travelled) than LT +ZT fish (Table 1), but this was not statistically different (MW, $Z=1.18, p=0.24$). Finally, HT fish tended to stay closer to the shelter than LT + ZT fish (Table 1) but Kruskal Wallis test did not shown any differences (MW, $Z=1.45, p=0.15$).

Table 1 : Inter-individual variability for variables of interest in the open field and restraint tests. All values are presented as mean (\pm sd) and range (min-max) for each triggering category.

Behavioural test	Restraint test				Open Field test			
Triggering category	HT		LT+ZT		HT		LT+ZT	
Variables	mean \pm sd	(min - max)	mean \pm sd	(min - max)	mean \pm sd	(min - max)	mean \pm sd	(min - max)
Latency before first escape attempt (s)	86.9 \pm 58.3	(1.3 - 180.0)	47.8 \pm 58.1	(0.3 - 180.0)	Latency to emerge from shelter (s)	594.5 \pm 409.4 (145.0 - 1200.0)	271.1 \pm 317.2	(18.0 - 1066.0)
Total escape duration (s)	1.9 \pm 1.9	(0.0 - 5.3)	4.1 \pm 4.8	(0.0 - 15.1)	Time spent in shelter(s)	468.9 \pm 270.9 (106.2 - 791.3)	233.3 \pm 251.5	(4.8 - 653.8)
Number of escape attempts	6.3 \pm 5.7	(0.0 - 15.0)	10.7 \pm 8.9	(0.0 - 27.0)	Time spent in center area (s)	95.0 \pm 150.1 (0.2 - 427.9)	171.7 \pm 184.1	(15.1 - 526.8)
					Time spent in border area (s)	317.5 \pm 242.1 (0.6 - 647.8)	488.2 \pm 315.7	(64.1 - 1007.7)
					Distance travelled (BL)	225.3 \pm 122.0 (83.0 - 413.1)	352.1 \pm 234.2	(109.1 - 888.7)
					Mean distance to the shelter (cm)	9.6 \pm 8.5 (1.5 - 22.2)	16.8 \pm 11.6	(3.2 - 33.9)
					Number of returns in shelter	84.5 \pm 43.1 (51.0 - 166.0)	57.3 \pm 75.2	(1.0 - 212.0)

Table 2 : Table of correlations between variables of interest of restraint test and open field test. Significant results are shown in bold characters and level of significance was $p < 0.05$.

Variables of interest	% Manipulation	Restraint test			Open field test						
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7
% Manipulation	-	rs= 0.38, p=0.10	rs=-0.33, p=0.15	rs=-0.32, p=0.17	-	-	-	-	-	-	-
Restraint test											
1: Latency before first escape attempt (s)	rs= 0.24, p=0.33	-	rs=-0.81, p<0.01	rs=-0.73, p<0.01	rs= 0.63, p<0.01	rs= 0.20, p=0.42	rs= 0.01, p=0.95	rs=-0.23, p=0.34	rs= 0.01, p=0.95	rs=-0.27, p=0.26	rs=-0.04, p=0.89
2: Total escape duration (s)	rs=-0.19, p=0.44	-	-	rs= 0.94, p<0.01	rs=-0.23, p=0.37	rs=-0.47, p=0.51	rs= 0.27, p=0.28	rs= 0.41, p=0.09	rs= 0.01, p=0.97	rs= 0.44, p=0.07	rs=-0.15, p=0.54
3: Number of escape attempts	rs=-0.19, p=0.46	-	-	-	rs=-0.15, p=0.53	rs=-0.48, p=0.04	rs= 0.35, p=0.16	rs=0.37, p=0.13	rs= 0.06, p=0.81	rs= 0.42, p=0.09	rs= 0.01, p=0.97
1: Latency to emerge from the shelter	rs=-0.53, p=0.02	-	-	-	-	rs=-0.02, p=0.94	rs= 0.20, p=0.41	rs=-0.06, p=0.79	rs= 0.09, p=0.72	rs=-0.12, p=0.63	rs= 0.11, p=0.66
2: In shelter duration (s)	rs= 0.54, p=0.02	-	-	-	-	-	rs=-0.82, p<0.01	rs=-0.69, p<0.01	rs=-0.53, p=0.02	rs=-0.90, p<0.01	rs= 0.59, p<0.01
3: Time spent in center zone (s)	rs=-0.51, p=0.03	-	-	-	-	-	-	rs= 0.49, p=0.04	rs= 0.53, p=0.02	rs= 0.80, p<0.01	rs=-0.36, p=0.14
4: Time spent in border zone (s)	rs=-0.26, p=0.29	-	-	-	-	-	-	-	rs= 0.26, p=0.30	rs= 0.75, p<0.01	rs=-0.60, p<0.01
5: Total distance travelled (BL)	rs=-0.17, p=0.59	-	-	-	-	-	-	-	-	rs= 0.52, p=0.03	rs=-0.09, p=0.73
6: Mean distance from the shelter (cm)	rs=-0.55, p=0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	rs=-0.55, p=0.02
7: Number of returns to the shelter	rs= 0.36, p=0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



A correlation analysis between each variable from both tests is shown in table 2. The “latency before first escape attempt” in the restraint test was positively correlated with “latency to emerge from the shelter” in the OFT ($r_s = 0.63$, $p < 0.01$; Figure 2). The “number of escape attempt” in the restraint test was negatively correlated with “time spent in shelter” during the open field test ($r_s = -0.48$, $p = 0.04$; Table 2). We also verified the absence of order effect in the OFT (correlation between latency to leave the safe area and order of passage: $r_s = 0.03$, $p = 0.89$) and size matching between fish characterized in behavioral test from each triggering category (MW, $Z = 0.53$, $p = 0.53$).

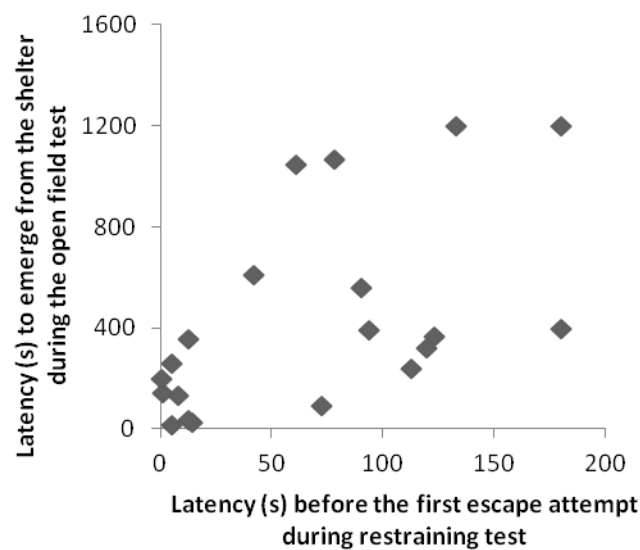


Figure 2 : Relation between the “latency to emerge from the shelter” during the open field test (OFT) and the “latency before the first escape attempt” during the restraint test. ($r_s = 0.63$, $p < 0.01$).

3.3. Links between individual triggering activity and personality tests variables

3.3.1. Restraint test

We found that “latency before first escape attempt” and the “number of escape attempts” were significantly negatively correlated (values are given in Table 1 and 2). The variable “total escape duration” was significantly positively correlated with “number of escape attempts”) and negatively correlated with “latency before first escape attempt”). However, the variables “latency before first escape attempt”, “total escape duration” and “number of escape attempts” were not correlated with individual actuation percentage (Table2).

3.3.2. Open field test

Only two individuals did not move out of the shelter and were removed from downstream analyses. They were HT fish. The variable “latency to emerge from the shelter” was not correlated with any other variable of interest (Table 2). The variable “in shelter duration” was negatively correlated with “time spent in center zone”, “time spent in border zone”, “total distance traveled” and “mean distance from the shelter” but positively correlated with “in shelter duration” (Table 2). The variable “time spent in center zone” was positively correlated with “time spent in border”, “total distance travelled” and “mean distance from the shelter”, but not with “number of returns to the shelter” (Table 2). The variable “time spent in border” was negatively correlated with “mean distance from the shelter” and “number of returns to the shelter” but not with “total distance travelled” (Table 2). The variable “total distance travelled” was positively correlated with “mean distance from the shelter” but was not correlated with “number of returns in the shelter” (Table 2). Finally, “mean distance from the shelter” was negatively correlated with “number of returns to the shelter”.

We found a positive correlation between “individual actuation percentage” and “latency to emerge from the shelter” ($r_s=0.53$; $p=0.02$; Figure 3A) and “in shelter duration” ($r_s=0.54$; $p=0.02$; Figure 3B). In addition, the “individual actuation percentage” was negatively correlated with the “mean distance from the shelter” ($r_s=-0.55$; $p=0.02$; Figure 3C) and “time spent in centre zone” ($r_s=-0.52$; $p=0.03$; Figure 3D). The “individual actuation percentage” was positively correlated with “number of returns to the shelter” ($r_s=0.40$, $p=0.03$). We found no significant correlations for any other variables (Table 2).

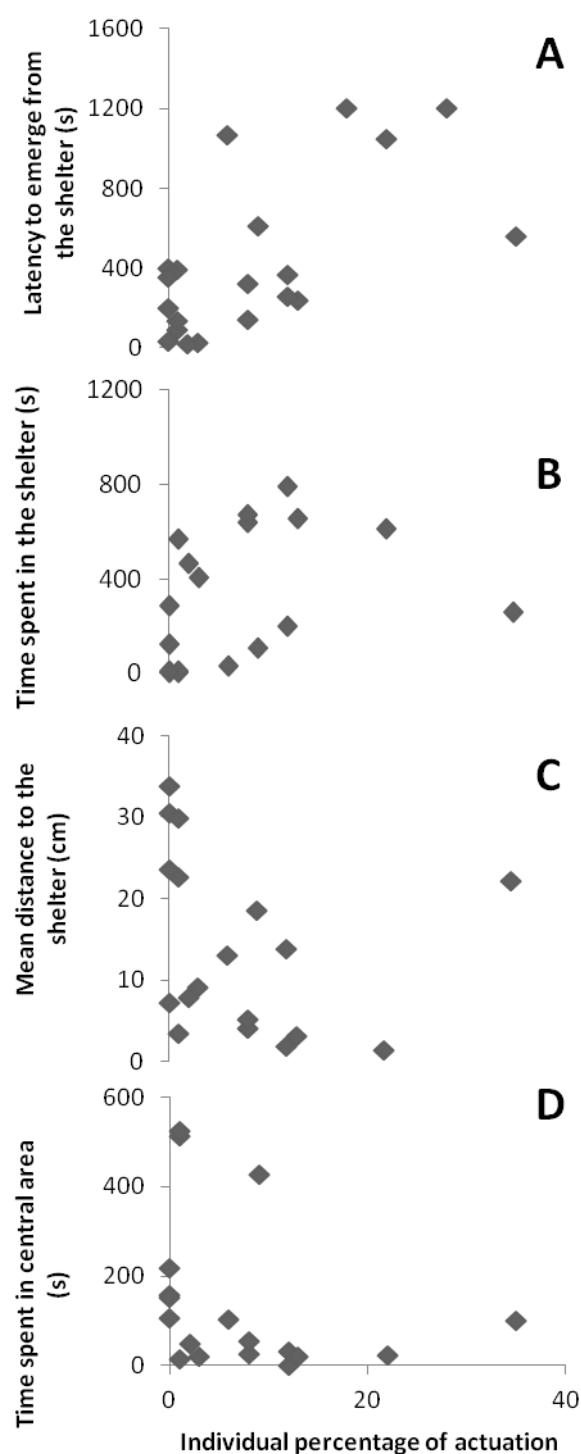


Figure 3 : Distribution of the values measured for the variables of interest during the duration of the OFT (20 min) with respect to individual percentage of actuation on the self-feeder device. **A** - Latency to emerge from the shelter (s) ; $r_s=0.53$; $p=0.02$. **B** - Time spent in the shelter; $r_s=0.54$; $p=0.02$. **C** - Mean distance from the shelter; $r_s=-0.55$; $p=0.02$. **D** - Time spent in central area; $r_s=-0.52$; $p=0.03$.

4. Discussion

The aim of this study was to investigate further seabass social structure that builds around the self-feeding system and to determine if this structure may be partly linked to personality traits. We determined social structure from each individual's contribution to total food demand. We then assessed personality (i.e. boldness-shyness axis) by common behavioral tests in individual fish from HT and LT+ZT groups.

The self-feeding experiment confirmed the social structure observed in previous studies (Di-Poï et al., 2007; Millot et al., 2008; Millot and Bégout, 2009; Benhaïm et al., 2012), with three well represented categories of fish. Our findings confirm that in a group of 50 seabass, only 5 % of the individuals are responsible for the majority of food request. The rest of the population could be divided into two groups, with LT fish making up almost 22 % and ZT fish constituting 73%. In accordance with previous studies on seabass (Benhaïm et al., 2012) and other species such as bird, Spice finches (*Lonchura punctulata*, Coolen et al., 2001), we found that neither SGR nor sex differences could explain this structure. In addition, aggression tests were performed on seabass at a similar age and did not show any aggressive interactions between conspecifics (Ferrari et al, submitted). We found however, that HT fish had higher mean body mass at the beginning and all along the experiment duration. This link between initial body mass and triggering activity is however highly variable. Indeed, (Covès et al., 2006) did not find any differences in initial and final body mass according to the triggering categories while Ferrari et al, (in preparation) found that HT fish were lighter than other categories. The fact that no SGR differences were observed between triggering categories means that fish did not take advantage from their triggering status, which is consistent throughout the literature (Covès et al., 2006; Millot and Bégout, 2009; Benhaïm et al., 2012).

In the present study, we observed personality differences between high triggering and low or zero triggering individuals in the open field test. Latency to emerge from a shelter showed high inter-individual variability and was still significantly positively correlated with individual actuation percentage. Fish that emerged quickly from the shelter (i.e. bold fish) performed few trigger actuations and conversely. In addition, HT fish spent significantly more time close to the shelter than LT+ZT fish, confirming the bolder character of LT+ZT fish (or conversely the shyer character of HT fish). Moreover, HT fish spent less time in the center zone (which is a risky zone), returned significantly more to the shelter and were less explorative than LT+ZT fish. All together, these results demonstrate that HT fish are shyer than LT+ZT fish. In addition, the consistency of all the different traits in HT and LT+ZT fish matches with the definition of personality. According to numerous studies (Budaev et al., 1999a; b; Fraser et al., 2001; Brown et al., 2007; Biro et al., 2010; Eriksson et al., 2010), the time to emerge from a shelter gives an indication of the individual's boldness, and swimming behavior in the open field gives an indication of boldness, activity and exploration (Millot et al., 2009a). This test has been successfully used in mammals (mainly in rodents), but also in



fish: in Guppy, *Poecilia reticulata* (Budaev1997b), Convict cichlid *Steatocranus casuarius* (Budaev et al. 1999b), and Rainbow trout (Sneddon, 2003).

The restraint test did not reveal any behavioral differences between triggering categories. However, although this test has been used successfully to sort fish according to their coping strategies (Silva et al., 2010; Castanheira et al., 2013b), it is highly invasive and stressful and is far removed from a natural situation, contrary to the OFT. The positive correlation between the latency before the first attempt to escape from the net and the latency to emerge from the shelter but also the negative correlation between the number of escape attempts and the time spent in shelter show that distinct personality exist in European seabass: individual with a passive response during the restraint test tended to be shy during the open field test. Such analysis across test should be further developed and could be indicative of a behavioral syndrome in seabass. Additionally, because seabass are known to be gregarious species and some studies have shown that testing personality of social species using individual based test may influence behavioral responses (reviewed by Ashley, 2007)), it would be interesting to couple triggering activity (which occur in group situation) and another personality test done in group such as the risk taking (Millot et al., 2009b) or the hypoxia tests (Laursen et al., 2011). This endeavour could improve data interpretation since here significant correlations explained only half of the variability of our dataset: as groups HT fish characteristic were demonstrably not independent of results returned by the open field test but the nature of our individual based test may have increased inter-individual variability.

Self-feeders are tools to study individual behavior in group and undisturbed conditions. When fish are placed under self-feeding conditions, they have to find their own food source (by the use of the self-feeder): the fish must find the trigger and learn how to activate and use it. This demonstrates an innovative foraging activity because they have never been in contact with such system before (Millot et al., 2013). In our study, the social foraging structure that builds around the self-feeder may be linked to the innovative ability of some fish, which in turn is linked to behavioral syndromes. Bold individuals are usually recognized as better competitors, with higher feed intake (Øverli et al., 1998), higher growth rates (Huntingford, 2004; Huntingford and Adams, 2005) than shy individuals. These individuals are also more dominant and take more risks to meet the demand of their faster pace of life (Biro and Stamps, 2008; Réale et al., 2010b). The high innovative abilities of poor competitors (who are usually reactive) have been already reported in a previous study (Cole and Quinn, 2012). Interestingly, when a fish entered the PVC cylinder containing the trigger, we observed a subgroup of 4 or 5 fish shoaling close behind, oriented towards the HT fish whereas other fish were waiting just under the food dispenser (as described in Di Poi et al., 2008). We hypothesize that LT+ZT fish have priority access to food resources under the feeder, which forces shy fish (HT) to find another strategy to feed themselves and compensate (i.e. activate the feeder until they can eat at will). This would force the HT fish to adopt a “producers” strategy. Indeed, schooling fish forage according to the

“scroungers/producers” theory. Group foragers commonly feed from food discovered, captured or otherwise made available by companions (Coolen et al., 2001). This so-called ‘joining’ is reported in people, other primates, social carnivores, birds, fish, spiders and insects (Giraldeau and Beauchamp, 1999). When all individuals in a group look for food, and every time a food source is discovered, all other animals in the group join the discoverer to share the food (Clark and Mangel, 1984). This seems to be the situation in the social structure we observe around the self-feeder, with only a few fish triggering the device and feeding the entire group. As reported in Di Poi et al., (2008), the high-triggering fish may play the role of the producer that feeds the entire group, whereas all other fish are opportunist individuals. This behavior may also be linked to coping style. Proactive seabass may know where the food falls and thus be the first to eat but pay less attention to their environment. HT seabass (i.e. reactive fish) however, seem to be aware of the mechanism enabling the food delivery because they are more cautious when exploring their environment as already observed in birds (Verbeek et al., 1994). In accordance with Bolhuis et al. (2004) and Coppens et al. (2010), bold fish tend to develop behavioral routines (waiting under the pellet release area in our case), as opposed to shy ones which are more attentive about their environment, which may explain why they learn how to activate the feeder.

In conclusion, this experiment provides for the first time evidence that high triggering status in seabass is linked with personality traits (i.e. shyness) hence partly explaining the social structure that builds around a self-feeder device. This could be linked to a foraging strategy and this knowledge could be used to manipulate population composition to favour the presence of more HT fish leading to better structured population achieving better growth. In addition, this would be also an additional characteristic of personality traits of potential interest for selection programs aiming at improving growth since it is likely that bold or shy fish will flourish better depending on the environment characteristics. Further research is however needed first to fully understand the acquisition of triggering status and what are the causative factors and, second, to confirm the producer role hypothesis.

Acknowledgments

We are grateful to Marie-Odile Vidal from Ifremer experimental aquaculture station in Palavas-les-Flots who hatched the seabass for this study and to Didier Leguay from PEP in La Rochelle for the technical development of the open field apparatus. This study was conducted under the approval of the Animal Care Committee of France under the official license of M.L. Bégout (17-010). The research leading to these results has received funding from the European Union Seventh Framework Program COPEWELL (FP7/2007-2013) under grant agreement n° 265957. The authors gratefully acknowledge the funding of this work by the European Union and by the county council of Charente Maritime (PhD grant to SF).



References

- Alanärä, A., 1992a. Demand-feeding as a self-regulating feeding system for rainbow trout in net-pens. *Aquaculture* 100, 167-167.
- Alanärä, A., 1992b. The effect of time-restricted demand feeding on feeding activity growth and feed conversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 108, 357-368.
- Alanärä, A., 1993. Significance of substrate and the timing of start-feeding in alevins of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 111, 47-55.
- Alanärä, A., 1996. The use of self-feeders in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production. *Aquaculture* 145, 1-20.
- Alanärä, A., Brännäs, E., 1996. Dominance in demand-feeding behavior in Arctic charr and rainbow trout: the effect of stocking density. *Journal of Fish Biology* 48, 242-254.
- Alanärä, A., Winberg, S., Brännäs, E., Kiessling, A., Höglund, E., Elofsson, U., 1998. Feeding behavior, brain serotonergic activity levels, and energy reserves of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) within a dominance hierarchy. *Canadian Journal of Zoology* 76, 212-220.
- Anthouard, M., Desportes, C., Kentouri, M., Divanach, P., Paris, J., 1986. Etude des modèles comportementaux manifestés au levier par *Dicentrarchus labrax*, *Diplodus sargus*, *Puntazzo puntazzo*, *Sparus aurata*, et *Lithognathus mormyrus* (Poissons téléostéens), placés dans une situation de nourrissage auto-contrôlé. *Biology of the Behavior* 11, 97-110.
- Aranda, A., Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A., 2001. Effect of short-term fasting on macronutrient self-selection in seabass. *Physiology & behavior* 73, 105-109.
- Ashley, P.J., 2007. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behavior Science* 104, 199-235.
- Azzaydi, M., Madrid, J.A., Sánchez-Vázquez, F.J., Martínez, F.J., 1998. Effect of feeding strategies (automatic, ad libitum demand feeding and time-restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 163, 285-296.
- Benhaïm, D., Bégout, M.-L., Péan, S., Brisset, B., Leguay, D., Chatain, B., 2012. Effect of fasting on self-feeding activity in juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Applied Animal Behavior Science* 136, 63-73.
- Biro, P.A., Beckmann, C., Stamps, J.A., 2010. Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277, 71-77.
- Biro, P.A., Stamps, J.A., 2008. Are animal personality traits linked to life-history productivity? *Trends in Ecology & Evolution* 23, 361-368.
- Bolhuis, J.E., Schouten, W.G.P., Leeuw, J.A.d., Schrama, J.W., Wiegant, V.M., 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioral flexibility in pigs. *Behavioral Brain Research* 152, 351-360.
- Boujard, T., Jourdan, M., Kentouri, M., Divanach, P., 1996. Diel feeding activity and the effect of time-restricted self-feeding on growth and feed conversion in European seabass. *Aquaculture* 139, 117-127.

- Boujard, T., Leatherland, J.F., 1992. Demand-feeding behavior and diel pattern of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. *Journal of Fish Biology* 40, 535-544.
- Brannas, E., Alanara, A., 1993. Monitoring the demand feeding activity of individual fish with a demand feeding system. *Journal of Fish Biology* 42, 209-215.
- Brown, C., Burgess, F., Braithwaite, V., 2007. Heritable and experiential effects on boldness in a tropical poeciliid. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62, 237-243.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., Mochek, A.D., 1999a. Consistency of individual differences in behavior of the lion-headed cichlid, *Steatocranus casuaris*. *Behavioral Processes* 48, 49-55.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., Mochek, A.D., 1999b. Individual differences in parental care and behavior profile in the convict cichlid: a correlation study. *Animal Behavior* 58, 195-202.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Chatain, B., 1994. Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*.
- Chen, W.M., Mayumi, N., Mitsuo, T., 2002. Circadian rhythms and individual variability of self-feeding activity in groups of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 33, 491-500.
- Clark, C.W., Mangel, M., 1984. Foraging and flocking strategies: information in an uncertain environment. *American Naturalist* 123, 626-641.
- Cole, E.F., Quinn, J.L., 2012. Personality and problem-solving performance explain competitive ability in the wild. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 1168-1175.
- Coleman, K., Wilson, D.S., 1998. Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behavior* 56, 927-936.
- Coolen, I., Giraldeau, L.-A., Lavoie, M., 2001. Head position as an indicator of producer and scrounger tactics in a ground-feeding bird. *Animal Behavior* 61, 895-903.
- Covès, D., Beauchaud, M., Attia, J., Dutto, G., Bouchut, C., Bégout Anras, M.L., 2006a. Long-term monitoring of individual fish triggering activity on a self-feeding system: An example using European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 385, 385-392.
- Covès, D., Beauchaud, M., Attia, J., Dutto, G., Bouchut, C., Bégout, M.L., 2006b. Long-term monitoring of individual fish triggering activity on a self-feeding system: An example using European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 253, 385-392.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G., 1998. A simple way of avoiding feed wastage in European seabass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquat. Living Resour.* 6, 395-401.
- Dagnélie, P. (Ed.), 1975. Théorie et méthodes statistiques. Applications agronomiques.
- Dahlbom, S.J., Lagman, D., Lundstedt-Enkel, K., Sundström, L.F., Winberg, S., 2011. Boldness Predicts Social Status in Zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS ONE* 6, e23565.



- Di-Poï, C., Attia, J., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Beauchaud, M., 2007. Behavioral and neurophysiological responses of European seabass groups reared under food constraint. *Physiology & behavior* 90, 559-566.
- Di-Poï, C., Beauchaud, M., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Attia, J., 2008. Effects of high food demand fish removal in groups of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Canadian Journal of Zoology* 86, 1015-1023.
- Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Réale, D., Wright, J., 2010. Behavioral reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 81-89.
- Echevarria, G., Martinez-Bebia, M., Zamora, S., 1997. Evolution of Biometric Indices and Plasma Metabolites During Prolonged Starvation in European Seabass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* 118A, 111-123.
- Eriksson, C.A., Booth, D.J., Biro, P.A., 2010. 'Personality' in two species of temperate damselfish. *Marine Ecology Progress Series* 420, 273-276.
- Fraser, D., Gilliam, J., JDaley, M., NLe, A., Skalski, G., 2001. Explaining Leptokurtic Movement Distributions: Intrapopulation Variation in Boldness and Exploration. *The American Naturalist* 158, 124-135.
- Giraldeau, L.A., Beauchamp, G., 1999. Food exploitation: searching for the optimal joining policy. *Trends in Ecology & Evolution* 14, 102-106.
- Huntingford, F.A., 2004. Implications of domestication and rearing conditions for the behavior of cultivated fish. *Journal of Fish Biology* 65, 122-142.
- Huntingford, F.A., Adams, C., 2005. Behavioral syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behavior* 142, 1207-1221.
- Jobling, M., Covès, D., Damsgard, B., Kristiansen, H.R., Koskela, J., Petursdottir, E., Kadri, S., Gudmundson, O., 2001. Techniques for Measuring Feed Intake, in: Houliham, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), *Food Intake in Fish*, Blackwell Science, London, pp. 49-87.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.
- Leal, E., Fernández-Durán, B., Agulleiro, M.J., Conde-Siera, M., Míguez, J.M., Cerdá-Reverter, J.M., 2013. Effects of dopaminergic system activation on feeding behavior and growth performance of the seabass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach. *Hormones and Behavior* 64, 113-121.
- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D.M., Kadri, S., Huntingford, F.A., 2009. Screening for Coping Style Increases the Power of Gene Expression Studies. *PLoS ONE* 4, e5314.
- Maximino, C., de Brito, T.M., da Silva Batista, A.W., Herculano, A.M., Morato, S., Gouveia Jr, A., 2010. Measuring anxiety in zebrafish: A critical review. *Behavioral Brain Research* 214, 157-171.

- Millot, S., Bégout, M.-L., 2009. Individual fish rhythm directs group feeding: a case study with seabass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) under self-demand feeding conditions. *Aquatic Living Resources* 22, 363-370.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Chatain, B., 2009a. Exploration behavior and flight response toward a stimulus in three seabass strains (*Dicentrarchus labrax* L.). *Applied Animal Behavior Science* 119, 108-114.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Person-Le Ruyet, J., Breuil, G., Di-Poï, C., Fievet, J., Pineau, P., Roué, M., Sévère, A., 2008. Feed demand behavior in seabass juveniles: effects on individual specific growth rate variation and health (inter-individual and intergroup variation). *Aquaculture* 274, 87-95.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Chatain, B., 2009b. Risk-taking behavior variation over time in seabass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *Journal of Fish Biology* 75, 1733-1749.
- Millot, S., Nilsson, J., Fosseidengen, J., Bégout, M.-L., Fernö, A., Braithwaite, V., Kristiansen, T., 2013. Innovative behavior in fish: Atlantic cod can learn to use an external tag to manipulate a self-feeder. *Animal Cognition*, 1-7.
- Millot, S., Nilsson, J., Fosseidengen, J.E., Bégout, M.-L., Kristiansen, T., 2012. Evaluation of self-feeders as a tool to study diet preferences in groups of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquatic Living Resources* 25, 251-258.
- Millot, S., Péan, S., Chatain, B., Bégout, M.-L., 2011. Self-feeding behavior changes induced by a first and a second generation of domestication or selection for growth in the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Living Resources* 24, 53-61.
- Miyazaki, T., Masuda, R., Furuta, S., Tsukamoto, K., 2000. Feeding behavior of hatchery-reared juveniles of the Japanese flounder following a period of starvation. *Aquaculture* 190, 129-138.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Nilsson, G.E., 2006. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? *Physiology & Behavior* 87, 506-512.
- Øverli, Ø., Winberg, S., Damsård, B., Jobling, M., 1998. Food intake and spontaneous swimming activity in Arctic char (*Salvelinus alpinus*): role of brain serotonergic activity and social interactions. *Canadian Journal of Zoology* 76, 1366-1370.
- Paspatis, M., Maragoudaki, D., Kentouri, M., 2002. Feed discrimination and selection in self-fed European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture Research* 33, 509-514.
- Réale, D., Garant, D., Humphries, M.M., Bergeron, P., Careau, V., Montiglio, P.-O., 2010. Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 4051-4063.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291-318.
- Rubio, V.C., Vivas, M., Sanchez-Mut, A., Sanchez-Vazquez, F.J., Coves, D., Dutto, G., Madrid, J.A., 2004. Self-feeding of European seabass (*Dicentrarchus labrax*, L.) under laboratory and farming conditions using a string sensor. *Aquaculture* 233, 393-403.



- Sánchez-Vázquez, F.J., Azzaydi, M., Martinez, F.J., Zamora, S., Madrid, J.A., 1998. Annual rhythms of demand-feeding activity in seabass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology International* 15, 607-622. .
- Sánchez-Vázquez, F.J., Martinez, M., Zamora, S., Madrid, J.A., 1994. Design and performance of an accurate demand feeder for the study of feeding behavior in seabass, *Dicentrarchus labrax* L. *Physiology & Behavior* 56, 789-794.
- Sih, A., Bell, A., Chadwick Johnson, J., 2004. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 372-378.
- Silva, P.I.M., Martins, C.I.M., Engrola, S., Marino, G., Øverli, Ø., Conceição, L.E.C., 2010. Individual differences in cortisol levels and behavior of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behavior Science* 124, 75-81.
- Sneddon, L.U., 2003. The bold and the shy: individual differences in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 62 971-975.
- Tian, X., Qin, J.G., 2003. A single phase of food deprivation provoked compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 224, 169-179.
- Tveteras, R., Nystoyl, R., 2011. Fish production Estimates & trends 2011–2012 Santiago, Chile.
- Verbeek, M.E.M., Drent, P.J., Wiepkema, P.R., 1994. Consistent individual differences in early exploratory behavior of male great tits. *Animal Behavior* 48, 1113-1121.
- Wilson, D.S., Clark, A.B., Coleman, K., Dearstyne, T., 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 442-446.
- Wolf, M., Van Doorn, S., Leimar, O., Weissing, F.J., 2007. Life-history trade-offs favour the evolution of animal personalities. *Nature*, 581-585.
- Yoshida, M., Nagamine, M., Uematsu, K., 2005. Comparison of behavioral responses to a novel environment between three teleosts, bluegill *Lepomis macrochirus*, crucian carp *Carassius langsdorfii*, and goldfish *Carassius auratus*. *Fisheries Science* 71, 314-319.

Chapitre 6:

Article V : Est-ce qu'un ensemble de réponses comportementales caractérisées en situation individuelle et en situation de groupe reflète un syndrome comportemental chez le bar,
Dicentrarchus labrax

En préparation



Photo du dispositif utilisé pour évaluer le niveau de sociabilité des individus (poisson test en bas, congénère en haut).

Sébastien Ferrari

Sarah Féry

David Benhaïm

Didier Leguay

Béatrice Chatain

Marie-Laure Bégout

A l'issue des résultats de l'article IV mettant en évidence des liens entre le comportement de demande alimentaire et deux des cinq axes de la personnalité du bar (l'audace et l'exploration), j'ai décidé de caractériser un troisième axe de la personnalité - la sociabilité - et d'évaluer le lien avec le comportement de demande alimentaire. Le bar étant une espèce grégaire et sociale, nous avons émis l'hypothèse d'une coopération entre les individus, coopération qui trouve son origine dans la théorie des jeux et en particulier dans la théorie dite des « producteurs-chapardeurs ». Selon la théorie des *coping styles*, mais aussi selon celle du syndrome des rythmes de vie, les individus réactifs sont moins actifs, moins agressifs, plus timides et plus sociaux. L'hypothèse à tester est donc que les individus manipulateurs seraient plus sociaux que les non manipulateurs. J'ai donc décidé de mettre en place un dispositif expérimental pour caractériser la sociabilité chez le bar. Ce dispositif consiste à placer un individu dans une zone où il peut voir d'un côté un congénère familier placé dans un aquarium, et de l'autre, séparé par une cloison opaque, un second aquarium mais sans congénère. Après une période d'acclimatation, la porte de la zone dans laquelle se trouve l'individu à tester est ouverte, et ce dernier devient libre d'interagir ou non avec le congénère. Selon différentes études réalisées chez le rat, le temps passé proche du congénère donne un indice de sa sociabilité. Cependant, toujours dans l'objectif d'évaluer les liens qui pourraient exister entre différents comportements, j'ai par ailleurs caractérisé la tolérance à l'hypoxie de ces individus ainsi que leur activité exploratoire et leur audace. Cette expérience correspond à l'article qui suit, intitulé : Est ce qu'un ensemble de réponses comportementales caractérisées en situation individuelle et en situation de groupe reflètent un syndrome comportemental chez le bar, *Dicentrarchus labrax* ?

Résumé de l'Article V:

L'objectif de cette étude était d'évaluer le lien entre la tolérance à l'hypoxie en situation de groupe, et trois axes de la personnalité (l'audace, l'exploration et la sociabilité) déterminés en situation individuelle, tout en évaluant les interactions pouvant exister avec les stratégies d'approvisionnement en nourriture en conditions expérimentales d'auto-alimentation. Pour cela, nous avons suivi pendant 47 jours les comportements de demande alimentaire de bars âgés de 381 jours post éclosion, puis classé les individus en trois catégories selon leurs taux individuels moyens de manipulation (manipulateurs principaux (HT), manipulateurs occasionnels (LT) et non manipulateurs (ZT)). Nous avons par la suite caractérisé un sous échantillon d'individus appartenant aux trois catégories de manipulation (HT, LT et ZT) avec un test évaluant l'audace, l'activité et l'exploration (test individuel d'exploration en zone ouverte (OFT)), puis avec un test individuel d'interactions sociales évaluant les niveaux de sociabilité de ces mêmes individus. Enfin, nous avons déterminé le caractère proactif-réactif de tous les individus en évaluant leur tolérance et leur réaction face à des conditions d'hypoxie (test en groupe). Les liens entre les deux tests individuels et le test en groupe ont ensuite été analysés. Nous avons observé que les individus manipulateurs (HT) avaient une masse corporelle inférieure aux individus non manipulateurs (ZT), et ce tout au long de l'étude. Nos résultats n'ont pas permis d'identifier de différences comportementales entre les catégories de manipulation concernant l'OFT (audace, activité et exploration). Cependant, nous avons pu démontrer qu'il existait un lien entre les taux individuels de manipulation et les niveaux de sociabilité des individus tels qu'observés lors du test d'interactions sociales. Enfin, nous avons mis en évidence l'existence d'un syndrome comportemental entre les comportements observés dans les tests individuels et dans le test en groupe : Les individus caractérisés comme étant proactifs par le test en hypoxie se sont avérés avoir des comportements différents (*i.e.* de type réactif) dans les tests individuels, en particulier en terme d'activité.

Est ce qu'un ensemble de réponses comportementales caractérisées en situation individuelle et en situation de groupe reflète un syndrome comportemental chez le bar?

Sébastien Ferrari^{ac}, Sarah Féry^a, David Benhaïm^c, Didier Leguay^a, Béatrice Chatain^{bd},

Marie-Laure Bégout^a

a) Ifremer, Place Gaby Coll, BP7, 17137 L'Houmeau, La Rochelle, France 9

b) Station Expérimentale d'Aquaculture Ifremer, Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-Les-Flots, France

c) Cnam/Intechmer, BP 324, 50103 Cherbourg Cedex, France

d) UMR 110 INTREPID, Ifremer Cirad, 34000 Montpellier, France

1. Introduction

L'étude de la variabilité individuelle dans les réponses phénotypiques des animaux est en expansion ces dernières années (Réale et al., 2010; Castanheira et al., 2013b). Cette variabilité individuelle dans les réponses comportementales et physiologiques, entre autres, est conservée chez différents taxons au cours de l'évolution ce qui suggère qu'elle possède une valeur adaptative. La compréhension de cette variation individuelle est essentielle afin d'améliorer les connaissances sur les capacités d'adaptation individuelles (Wolf et al., 2007; Ferrari, 2014 - Chap 2) pouvant affecter la fitness.

Une partie de cette variabilité trouve ses origines dans des réponses comportementales individuelles cohérentes à travers le temps et/ou les situations (Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004a; Sih et al., 2004b), définies comme étant des traits de personnalité ou des « coping styles ». Différents traits de personnalité, ou types comportementaux sont communément reconnus chez les animaux. Ces traits sont déterminés par des réponses comportementales fonctionnelles le long d'un continuum au sein duquel la population se répartit. Réale et al., (2007) ont suggéré que la personnalité animale était globalement définie selon 5 axes ou continuums majeurs : 1) l'axe de la timidité-audace, 2) l'axe de l'exploration-évitement, 3) l'axe de l'activité, 4) de l'agressivité et 5) et celui de la sociabilité. Lorsqu'il existe une corrélation entre un ensemble de traits de personnalité, on parle de syndrome comportemental (Sih et al 2004a). Enfin, on distingue deux principaux types de réaction face à des situations stressantes, appelées « coping styles » (Koolhaas et al., 1999) avec les individus proactifs d'un côté et les réactifs de l'autre. Globalement, les individus proactifs sont 1) plus agressifs, 2) explorent plus rapidement des zones nouvelles, 3) approchent des objets nouveaux rapidement, 4) ont tendance à former des routines comportementales et 5) sont moins sociaux. On observe l'inverse pour les individus réactifs, une large fraction des populations se trouvant souvent en position intermédiaire entre ces deux extrêmes.

Alors que l'audace est relativement bien étudiée en raison de son ubiquité et de sa valeur adaptative (Wilson et al., 1994), la sociabilité l'est relativement peu dans le contexte de la recherche sur la personnalité. La sociabilité, dans cette étude, est définie comme la propension à passer du temps à côté d'un congénère non-familier, en comparaison à un individu qui passe plus de temps dans une zone vide identique à celle où se trouve le congénère (Kaidanovich-Beilin et al., 2011). Chez de nombreux taxa, les individus forment des groupes plus ou moins cohésifs (troupeaux, essaims, bancs ; Pulliam and Caraco, 1984; Krause and Ruxton, 2002; Cote et al., 2012). En effet, les individus tirent des bénéfices lorsqu'ils vivent en groupe, et ce à travers des informations sociales qui permettent une meilleure recherche de nourriture, mais aussi de réduire les risques liés à la prédation (vigilance, confusion, dilution) (Cote et al., 2012). Ferrari et al., (article IV - Chap 5) ont émis l'hypothèse de l'existence de stratégies de coopération de type « producteurs - profiteurs »



dans le comportement de demande alimentaire de bars européens *Dicentrarchus labrax*, en lien avec leur personnalité. Certains individus réactifs, plus attentifs à leur environnement et probablement socialement dominés, finissent par trouver le mécanisme permettant d'accéder à la source de nourriture (i.e producteurs), dont le groupe entier profite (i.e. profiteurs).

Cependant, pour caractériser les traits de personnalité, les expériences sont généralement réalisées en situations dans lesquelles les individus sont testés en isolement. Cet isolement ainsi que les manipulations exercées sur chaque individu lors des tests comportementaux constituent des sources de stress pouvant altérer les réponses comportementales et les capacités cognitives des individus, en particulier sur les espèces dites sociales ou grégaires. Or, les systèmes d'auto-alimentation (Covès et al., 2006) associés à un marquage individuel électronique de type PIT-tag constituent une nouvelle approche permettant d'étudier les comportements alimentaires individuels d'animaux vivant en groupe. Les systèmes d'auto-alimentation ont de nombreux avantages par rapport aux systèmes d'alimentation automatiques. Différentes études ont montré la mise en place d'une structure sociale particulière qui se construit autour du dispositif d'auto-alimentation chez un poisson marin social, le bar Européen, basée sur l'activité individuelle de manipulation du dispositif de distribution d'aliment. (Covès et al., 2006; Di-Poï et al., 2008; Millot et al., 2008; Benhaïm et al., 2012) Ferrari et al., (article IV - Chap 5). Trois catégories de manipulateurs sont distinguées: les manipulateurs principaux (HT), les manipulateurs occasionnels (LT) et les non-manipulateurs (ZT). Brièvement, il a été mis en évidence que, dans une population d'environ 50-60 individus, sous un régime de un ou deux granulés par individus distribués à chaque activation, un ou deux individus sont responsables de 80 % de l'activité alimentaire totale du bassin (Covès et al., 2006) ; ou deux ou trois individus sont responsable de 45 % des activations (Millot et al., 2008). Le reste de la population peut être divisée en deux groupes (LT et ZT) dont les proportions varient selon les auteurs. Les manipulateurs principaux ont une croissance transitoire supérieure lors de l'acquisition du statut de manipulateur principal, mais cette différence disparaît rapidement. Cependant, les poissons des différentes catégories de manipulateurs ne présentent aucune différence d'un point de vue physiologique (composition tissulaire et formule sanguine, Millot et al 2008) bien qu'ils présentent des taux de sérotonine cérébrale et de son métabolite inférieurs chez les HT (Di-Poï et al., 2007). Par ailleurs, ni un taux de croissance spécifique négatif, ni un effet du sexe (Benhaïm et al. 2012) ne permettent d'expliquer cette structure.

Cependant comme démontré par Ferrari et al., (sous presse - article IV - Chap 5), il semble exister une relation entre le comportement de demande alimentaire et deux des cinq axes de la personnalité (i.e. l'audace et l'exploration, audace évaluée en mesurant la latence pour initier l'exploration d'une nouvelle zone inconnue (Brown et al., 2007)). Les individus manipulateurs ont été caractérisés comme étant plus timides que les non manipulateurs. En effet, les individus manipulateurs sortaient moins rapidement du refuge et restaient plus proches de ce dernier en comparaison avec les individus non

manipulateurs. La sociabilité (un autre axe de la personnalité) étant relativement peu étudiée, nous avons souhaité caractériser la sociabilité sur des bars européens, puis évaluer les liens qui pourraient exister avec leur comportement de demande alimentaire.

Par ailleurs, différentes études ont montré que les individus de personnalités contrastées réagissaient différemment aux conditions d'hypoxie (Van Raaij et al., 1996; Laursen et al., 2011; Castanheira et al., 2013b), et notamment chez le bar, ce test permet de discriminer les individus proactifs des réactifs dans un test en groupe (hypoxia test, Ferrari et al., Chap 2). A notre connaissance, aucune étude n'a évalué à ce jour les liens pouvant exister entre la tolérance à l'hypoxie et quatre des cinq axes de la personnalité (audace, exploration, activité et sociabilité). L'objectif de cette étude est donc de réaliser une analyse conjointe du comportement alimentaire, de ces 4 axes de la personnalité et de la tolérance à l'hypoxie.

2. Matériel et méthodes

2.1. Modèle biologique d'étude et conditions expérimentales d'élevage

Les juvéniles de bar européens utilisés dans cette étude ont été produits et élevés pendant 12 mois à la station expérimentale d'aquaculture de l'Ifremer de Palavas-les-Flots (France) (éclosion le 08/03/2013). Le 07/03/2014, un lot de 420 individus, âgés de 364 jours, a été transféré à la Plateforme Ecophysiologie des Poissons de la station expérimentale de l'Ifremer de La Rochelle (<http://wwz.ifremer.fr/pep>, France). Après une période d'acclimatation de 11 jours, un sous échantillon de 366 poissons a été prélevé et marqué individuellement avec des PIT-Tags®ISO (Passive Integrated Transponder - Tag) le 18/03/2014, lorsque les poissons étaient âgés de 375 jours. Cette opération a été réalisée sous anesthésie à la benzocaïne à une concentration de 3.5 ml.l⁻¹ d'une solution stock préparée en dissolvant 100 g d'Ethyl-p-aminobenzoate (E1501, Sigma, St Louis, MO, USA) dans 1 l d'éthanol absolu (100%). Les individus ont ensuite été répartis de manière équilibrée dans six bassins de 400 l (Bassin 1 (B1) à Bassin 6 (B6), 61 individus par bassin) fonctionnant en circuit fermé (Flux de 4m³.h⁻¹ et 25 % d'eau renouvelée chaque jour). Afin de ne pas perturber les poissons, l'ensemble des bassins étaient protégés par des rideaux noir opaques. Chaque bassin était surplombé par une ampoule de lumière blanche (LED Technology Master LEDSPOT 16 W 2700 K, illumination of 30 lux). Le régime photopériodique a été maintenu constant (14 heures de jour et 10 heures de nuit). Afin de garantir des conditions d'élevage stables et optimales, les paramètres physico-chimiques de l'eau ont été contrôlés quotidiennement : la température de l'eau a été maintenue à 18.7 ± 0.9 °C, le taux de saturation en oxygène à 93.4 ± 15.4 % et la salinité à 27.4 ± 2.8. Tout au long de l'étude (108 jours), les concentrations en nitrites, nitrates et ammonium ont été dosées de manière hebdomadaire au moyen de kit JBL® afin de vérifier que les taux étaient acceptables ([NO₂] = 0.9 ± 0.7 mg.l⁻¹; [NO₃] = 12.9 ± 2.6 mg.l⁻¹; [NH₄] = 0.2 ± 0.1 mg.l⁻¹).



2.2. Evaluation des performances de croissance.

Trois biométries ont été réalisées sous anesthésie comme indiqué ci-dessus. La première à 375 jours post-éclosion (jpe) (18/03/2014), la seconde à 444 jpe (26/05/2014) et la dernière à 479 jpe (30/06/2014). Les variables évaluées furent la masse corporelle (M en g), la longueur à la fourche (L en cm) et le taux de croissance spécifique (TCS, % de gain de masse corporelle par jour) calculé comme suit : $TCS = 100 * (\ln(M_f) - \ln(M_i)) / t$, avec M_f et M_i étant respectivement la masse finale et initiale (g) et t le nombre total de jours de la période considérée. La période 1 (P1) correspond au TCS entre 375 et 444 jpe (TCS_{P1}) et la période 2 (P2) au TCS entre 444 et 479 jpe (TCS_{P2}). En fin d'expérience, à 479 jpe, les individus ont été sacrifiés par overdose d'anesthésique (benzocaine, Sigma®), puis sexés selon la méthode décrite dans (Ferrari et al., 2014).

2.3. Système d'auto-alimentation et comportement de demande alimentaire

2.3.1. Système d'auto-alimentation

Chaque bassin était équipé d'un système de distribution de nourriture à la demande ou « self feeder » piloté par ordinateur (Covès et al., 2006). Ce système est composé d'un levier d'activation, d'une antenne électromagnétique détectrice de PIT-Tag, ainsi que d'un distributeur d'aliments. Le levier d'activation est situé à l'intérieur d'un cylindre en PVC autour duquel est fixée l'antenne de détection. Afin de déclencher la distribution de nourriture pour l'ensemble du bassin, un individu doit taper sur la tige en passant au travers de l'antenne de détection de PIT-tag permettant ainsi son identification, associée à la date et à l'heure correspondante. Chaque activation de la tige est récompensée par une distribution moyenne de 1.75 ± 0.07 g d'aliment (61 granulés = 1 granulé par individu) qui correspond, en fonction de la biomasse de poissons présente dans les bassins, à une quantité équivalente à 0.6 g.kg^{-1} de poisson au début de l'expérience et à 0.4 g.kg^{-1} à la fin. L'aliment utilisé lors de cette étude était des granulés commerciaux (Le Gouessant®, BIONATURE coul 3 ; diam : 3 mm ; 52 % protéines). La quantité d'aliment distribuée a été ajustée de façon à minimiser le gaspillage alimentaire et à optimiser l'allocation de nourriture pour le groupe.

2.3.2. Comportement de demande alimentaire

Le comportement de demande alimentaire a été suivi pendant 47 jours, de 381 jpe (24/03/2014) à 427 jpe (09/05/2014). L'accès à la nourriture était possible sans limitation toute la journée (24h). Les demandes alimentaires (activité de manipulation individuelle de la tige) ont été enregistrées et la quantité d'aliment distribuée dans chaque bassin a été calculée quotidiennement. La variable retenue pour évaluer le comportement de demande alimentaire était le taux de manipulation individuel moyen (T_m en %), correspondant à la contribution moyenne de chaque individu par rapport au nombre total de demandes alimentaires réalisées par l'ensemble du groupe sur la période étudiée.

Les individus ont été classés en 3 catégories en fonction de leur taux de manipulation individuel moyen : manipulateurs principaux (HT : $T_m > 8\%$), manipulateurs occasionnels (LT : $T_m < 8\%$) et non-manipulateurs (ZT : $T_m < 2\%$).

2.3. Caractérisation des traits de personnalité

Une fois que la structure sociale, basée sur le comportement de demande alimentaire, a été établie (présence des 3 catégories de manipulateurs bien définies), tous les individus HT et autant d'individus LT et ZT (sélectionnés au hasard) ont été caractérisés par leurs traits de personnalité en utilisant deux tests comportementaux individuels. Afin d'évaluer l'audace et l'exploration, un test individuel d'exploration en zone ouverte (OFT, Open Field Test) avec un refuge a été réalisé (Ferrari et al., article IV - Chap 5). Pour évaluer le niveau de sociabilité, un test de choix entre approche ou aversion pour un congénère non-familier a été utilisé. Enfin, un test en groupe de tolérance à l'hypoxie (Ferrari et al., article II - Chap2) a ensuite été réalisé pour tous les individus de chaque bassin.

2.3.1. Test en zone ouverte avec un refuge (open field with shelter, OFT)

2.3.1.1. Dispositif expérimental

L'open field (OFT) utilisé était un bassin carré étanche (L72 cm x l72 cm x h40 cm, hauteur d'eau de 19 cm) avec des parois en Comatex® blanc et un plancher en Plexiglass® transparent (Figure 1). Un refuge (boîte en PVC opaque, L18 cm x l18 cm x h18 cm, équipée d'un couvercle opaque et fermée par une trappe coulissante) a été placé dans l'un des angles de l'OFT. L'arène a été découpée en plusieurs zones virtuelles : une zone refuge, une zone d'entrée (zone de transition entre le refuge et la zone ouverte), une zone proche du refuge, une zone périphérique et une zone centrale. L'installation a été placée sur un plancher infrarouge (IR) (1 x 1m, Noldus, the Netherlands) afin d'éviter la réflexion de lumière, de filmer à de faibles intensités de lumières et d'améliorer la qualité des enregistrements. L'expérience s'est déroulée dans une salle d'éthologie dédiée afin d'éviter toutes perturbations des poissons. L'ensemble de l'expérience a été filmée à 25 images par secondes à l'aide d'une caméra (camera Ikegami CD48E; lentille 2.8 - 12 mm Computar®, équipée d'un filtre IR) placée à 130 cm au-dessus de la surface de l'eau. Les vidéos ont été acquises avec le logiciel EthoVision XT 10® (Noldus, the Netherlands). Une lumière (LED Technology Master LEDSPOT 16 W 2700 K, illumination of 30 lux) a été placée à 140 cm du niveau de l'eau afin d'obtenir un éclairage indirect et une luminosité homogène sur l'ensemble du dispositif expérimental.

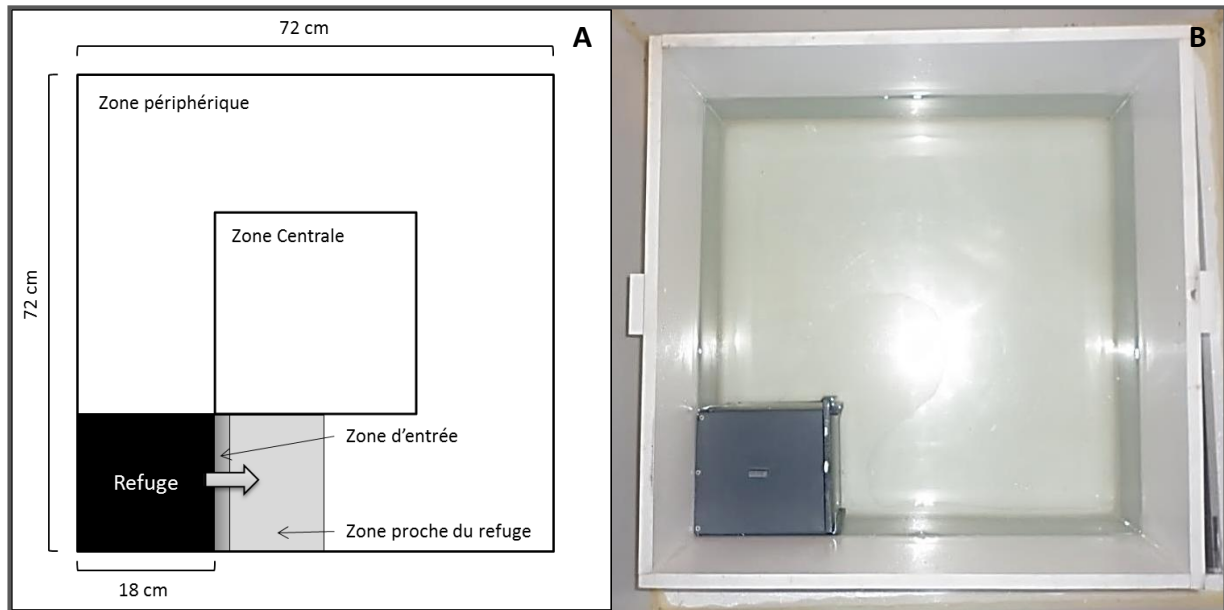


Figure 1 : **A** - Représentation schématique du dispositif expérimental de l'open field et des zones virtuelles définies pour l'analyse des enregistrements vidéo. **B** - photographie du dispositif expérimental.

2.3.1.2. Protocole expérimental

Le test en open field a été réalisé à 430 jpe sur un sous échantillon de 53 poissons (18 HT, 13 LT, 22 ZT). Six jours ont été nécessaires afin de tester tous les individus (du 12/05/2014 au 19/05/2014), soit un bassin par jour. Chaque jour, tous les individus d'un bassin ont été pêchés et transférés dans un bac de 70 litres. Les individus sélectionnés ont ensuite été pêchés soigneusement un par un puis placés individuellement dans le refuge. Après une période d'acclimatation de 5 minutes, la trappe a été ouverte délicatement et le poisson a pu explorer la zone ouverte pendant 40 minutes. L'enregistrement vidéo a été déclenché au moment de l'ouverture de la trappe et arrêté 40 minutes après. Si le poisson n'est pas sorti du refuge pendant le temps de l'expérience, une latence maximale de 2400 secondes lui a été attribuée et les autres variables comportementales n'ont pas été analysées. Les enregistrements vidéo ont été analysés avec le logiciel EthoVision XT 10® (Noldus, The Netherlands).

2.3.1.3. Variables d'intérêt

Différentes variables d'intérêt ont été choisies pour analyser la personnalité des individus. La latence pour sortir du refuge (Latence en s), définie comme le temps mis par le poisson pour sortir du refuge. Le poisson a été considéré réellement sorti lorsqu'après sa détection hors de la zone refuge, il est allé explorer la zone ouverte ou lorsqu'au moins une longueur corporelle était hors du refuge. Les données n'ont pas été prises en compte dans l'analyse lorsque la tête ou la queue du poisson étaient détectées hors du refuge pendant un

intervalle de temps inférieur à 2 secondes. Les autres variables sont le temps passé dans le refuge (T_{refuge} en s), dans la zone centrale (T_{centre} en s) ainsi que dans la zone périphérique ($T_{\text{périph}}$ en s). La distance totale parcourue (D_{tot} en longueur corporelle, LC) : pour tous les individus, la distance totale parcourue (cm) a été divisée par la longueur corporelle (cm) afin de standardiser les données et de minimiser les biais dus aux différences de taille entre les individus testés. La distance moyenne par rapport au refuge (D_{refuge} en cm), et le nombre d'aller-retour dans la zone refuge ($\text{Freq}_{\text{refuge}}$) ont aussi été mesurés.

2.3.2. Test d'interaction sociale (IS)

2.3.2.1. Dispositif expérimental

Le test d'IS a été réalisé à 444 jpe sur les mêmes individus que ceux testés précédemment en OFT (49 poissons : 18 HT, 11 LT, 20 ZT).

La chambre à interactions sociales utilisée consiste en un bassin rectangulaire étanche (L90 cm x l40 cm x H15 cm, hauteur d'eau : h14 cm) avec des parois en Comatex® blanc et un plancher en Plexiglass® transparent. Six zones virtuelles ont été définies dans le dispositif expérimental (Figure 2). La zone de départ (40 x 20 cm) est située à l'une des extrémités du dispositif, recouverte par un couvercle semi opaque laissant passer les infrarouges et séparée du reste du dispositif par une trappe coulissante en Plexiglass® transparent. En face de cette zone de départ, deux aquariums en verre identiques (L18 x l16.5 cm) et strictement étanches ont été installés pour accueillir le congénère non-familier. Chacun des deux aquariums est équipé d'un bullage d'air et d'un couvercle afin que l'expérimentateur n'effraie pas le congénère lors du transfert du poisson test dans le dispositif. Entre la zone de départ et les 2 aquariums, il y a une zone ouverte partiellement séparée par une paroi de 20 cm de long placée entre les 2 aquariums.

Zonation virtuelle : La zone de départ fermée par une trappe coulissante transparente est séparée en 2 zones virtuelles : la zone de départ du côté du congénère (DépartCong) et la zone de départ du côté opposé au congénère (DépartOpCong). La zone ouverte est divisée en deux zones virtuelles : la zone ouverte du côté du congénère (PreCong) et la zone ouverte située du côté opposé au congénère (PreOpCong). Enfin, la zone proche des aquariums où est placé le congénère est également divisée en deux zones virtuelles : la zone proche du congénère (Cong) et la zone opposée au congénère (OpCong). Le nom des zones varie en fonction de la position du congénère dans l'aquarium de gauche ou de droite (Figure 2).

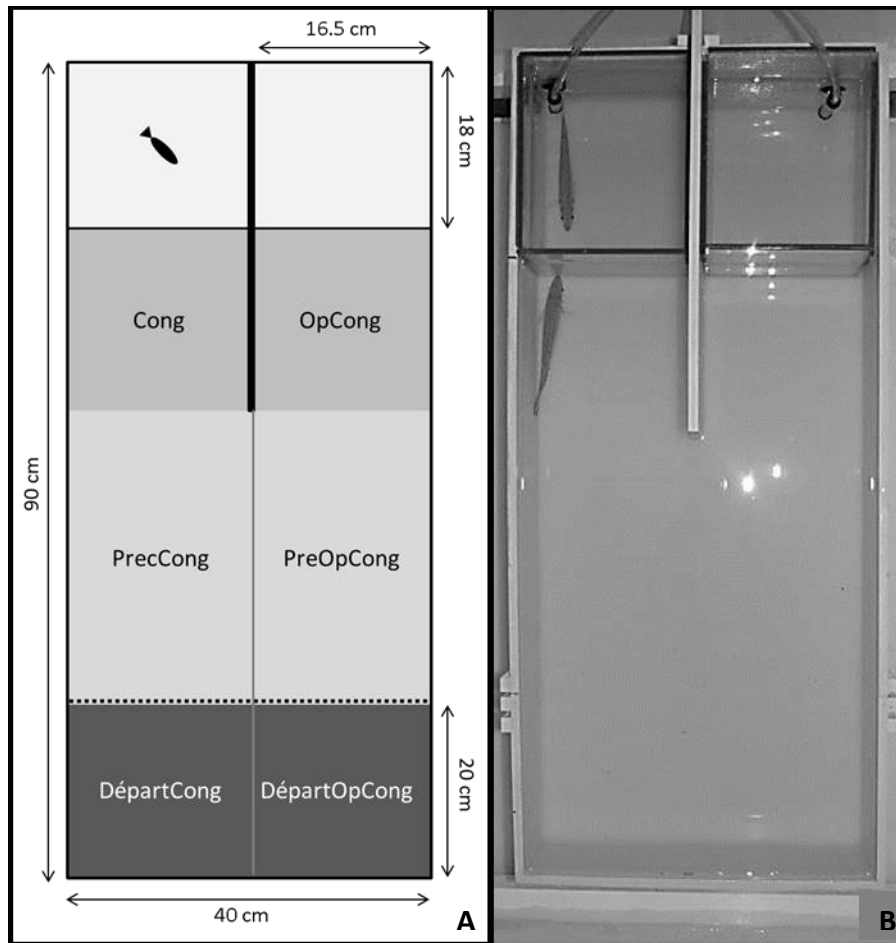


Figure 2 : **A** - Représentation schématique du dispositif expérimental (chambre à interactions sociales) et des zones virtuelles définies pour l'analyse des enregistrements vidéo. La ligne en pointillés représente la trappe coulissante transparente en Plexiglass®. Les lignes noires formant le contour du schéma représentent les parois en Comatex blanc. La ligne noire épaisse représente la paroi de séparation en Comatex blanc. Les deux carrés blancs représentent les aquariums étanches en verre transparents où est placé le congénère. **B** - photographie du dispositif expérimental.

Le dispositif est placé sur un plancher infrarouge (1 x 1m, Noldus, the Netherlands). La température, la salinité et la concentration en oxygène (% de saturation en oxygène) ont été contrôlées avant et après les tests comportementaux et étaient en moyenne respectivement de 20.1 ± 0.1 °C, 30.9 ± 0.0 et 98.2 ± 2.1 % avant et de 20.1 ± 0.2 °C, 30.9 ± 0.0 et 83.9 ± 7.2 % après. Ce test a été réalisé dans la même salle d'éthologie que l'OFT, avec le même dispositif d'acquisition (section 2.4.1.1).

2.3.2.2. Protocole expérimental

Pour chaque bassin, la position du congénère (dans l'aquarium de gauche ou de droite) a été déterminée au hasard au début de la journée d'expérimentation. Au milieu de la journée, lorsque la moitié des individus à tester est passée en test individuel, la position du congénère a été inversée et le congénère changé pour les individus restants. Les individus

ont été testé un par un. Au total, six jours ont été nécessaires afin de tester tous les individus sélectionnés (du 26/05/2014 au 02/06/2014), soit un bassin par jour. Chaque jour, les individus à tester ont d'abord été pêchés dans leur bassin d'origine et transférés dans un bac de 70 litres, et placés dans une salle isolée. Dans le but de standardiser les conditions avant de passer en test individuel, chaque poisson testé a été pêché avec une épuisette dans le bac de 70 litres puis placé dans un sceau de 5L pendant 30 minutes. Ainsi, lorsqu'un poisson était en train de passer en test de sociabilité, le poisson suivant était en attente dans le sceau. Immédiatement après, le poisson était ensuite transféré délicatement dans la zone de départ de la chambre à interactions sociales. Après une période d'acclimatation de 10 minutes, pendant laquelle le poisson pouvait se déplacer et voir le congénère au travers de la trappe transparente, la trappe a été ouverte, le couvercle retiré délicatement et l'enregistrement vidéo a été démarré. Le comportement du poisson a ensuite été filmé pendant 30 minutes. L'eau a été entièrement renouvelée à chaque changement de congénère, soit une fois par jour. Pendant les périodes d'acclimatation, le bullage d'air a été ouvert dans les aquariums à congénère afin de maintenir un niveau d'oxygène suffisant.

2.3.2.3. Variables d'intérêt

Les variables d'intérêt retenues pour ce test sont : le temps passé dans chaque zone, exprimé en secondes (s) : la zone de départ ($T_{\text{Départ}}$) rassemblant la zone de départ côté congénère ($T_{\text{DépartCong}}$) et la zone de départ côté opposée au congénère ($T_{\text{DépartOpCong}}$) ; la zone proche du congénère (T_{Cong}) et la zone opposée au congénère (T_{OpCong}). La distance totale parcourue par chaque poisson (D_{tot} en LC) et enfin la vitesse angulaire absolue, exprimée en degrés par secondes (V_{ang} en $^{\circ}\text{s}^{-1}$) ont été calculées. Cette dernière variable donne une indication sur le taux de changement de direction par unité de temps et quantifie la complexité de la nage.

2.3.3. Test de tolérance à l'hypoxie

Un test de tolérance à l'hypoxie a été réalisé sur l'ensemble des poissons ($N=360$) à 459 jpe (10/06/2014).

2.3.3.1. Dispositif expérimental

Le dispositif utilisé est constitué de deux compartiments (bacs circulaires identiques de 70 L, hauteur d'eau : 48 cm, diamètre: 49.5 cm, Figure 3) reliés entre eux par un tube en acrylique transparent (longueur : 30 cm, diamètre : 11cm, hauteur depuis le fond : 23 cm) situé à 1 cm au-dessous du niveau de l'eau et à l'extrémité duquel est fixée une antenne détectrice de PIT-Tag reliée à un ordinateur. Le bac 1 (bac hypoxique) est équipé d'un bullage d'air, d'oxygène et d'azote, muni d'un couvercle et maintenu dans la pénombre. Le Bac 2 (bac normoxique) est équipé d'un bullage d'air et éclairé horizontalement avec un spot (LED Technology Master LEDSPOT 16 W 2700 K, illumination of 30 lux) placé à mi-hauteur de la colonne d'eau à l'extérieur du bac.

2.3.3.2. Protocole expérimental



Ce test a été réalisé successivement sur les 6 bassins. Deux jours ont été nécessaires pour réaliser cette expérimentation (3 bassins par jour). La température et la salinité ont été mesurées (température = 21.9 ± 0.4 °C, salinité = 30.5) au début de chaque test. Tous les individus d'un bassin ont été pêchés et transférés dans le bac 1 (futur bac hypoxique) puis laissés en acclimatation pendant 10 minutes (Figure 3). Pendant cette période d'acclimatation, le passage entre les 2 compartiments au niveau du tube était obstrué à l'aide d'une épuisette. La concentration en oxygène dans le Bac 1 est maintenue stable ($\sim 100\%$) en contrôlant les arrivées d'air et d'oxygène. A la fin de la phase d'acclimatation, les arrivées en air et en oxygène ont été coupées dans le bac 1, tandis que, dans le bac 2 (bac normoxique), le bullage en air est maintenu pendant toute la durée du test. Immédiatement après, le passage entre les deux bacs a été ouvert laissant les poissons passer librement du bac 1 (hypoxique) au bac 2 (normoxique). Dans le bac 1 (hypoxique), la respiration des poissons ainsi que des ajouts contrôlés d'azote ont permis d'obtenir une diminution progressive et constante de la concentration en oxygène : l'expérience a débuté avec une concentration en oxygène de 100% dans le bac hypoxique et a été stoppée lorsque la concentration en oxygène a atteint 7% (Diminution de 100% jusqu'à 7% en 47 ± 6 minutes). La concentration en oxygène (% saturation en oxygène) est relevée manuellement toutes les minutes dans le bac hypoxique à l'aide d'un oxymètre WTW. Lorsqu'un poisson passe du bac hypoxique au bac normoxique, il passe au travers du tube et l'antenne détecte son Tag. L'identité et l'heure de passage de chaque individu ont ainsi été enregistrées. A la fin de l'expérience, la concentration en oxygène dans le bac normoxique a été immédiatement mesurée et notée. La concentration moyenne sur les 6 tests était de 77.2 ± 12.2 % dans le bac normoxique.

2.3.3.3. Variables d'intérêt

Les variables d'intérêt pour ce test sont : le taux d'oxygène lorsqu'un individu passe pour la première fois du bac hypoxique au bac normoxique ($[O_2]_{\text{Sortie}}$ en %), le temps de latence avant le premier passage vers le bac normoxique (Latence en s) ainsi que le nombre d'aller-retour entre les deux bacs (Nb passages).

Deux catégories d'individus ont été définies. Les individus qui fuient l'hypoxie pour aller vers des conditions de normoxie ont été caractérisés comme étant « Intolérants à l'hypoxie » (HA) et les poissons qui sont restés dans le bassin hypoxique ont été caractérisés comme étant « Tolérants à l'hypoxie » (HR).

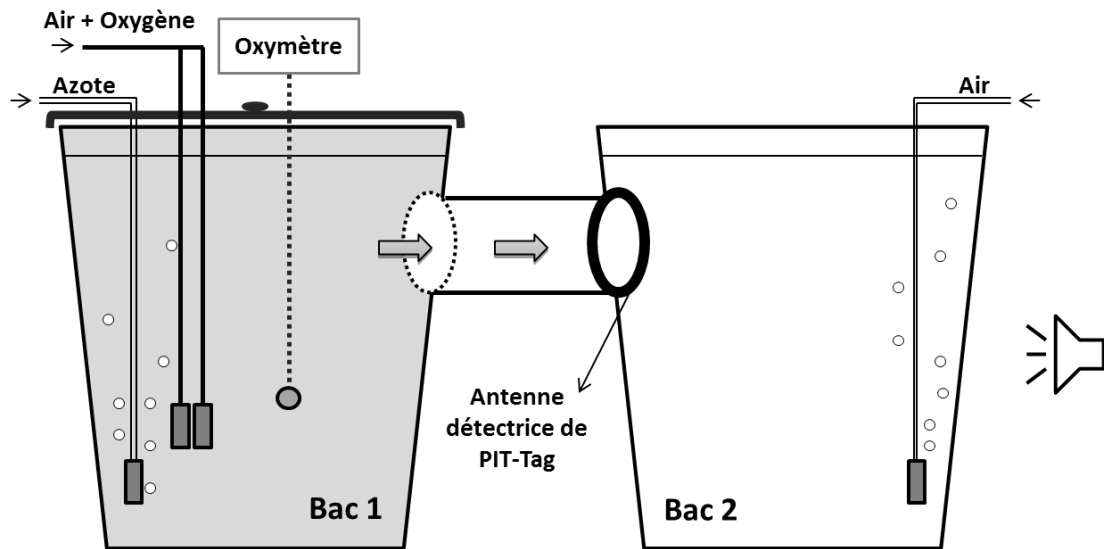


Figure 3 : Représentation schématique du dispositif expérimental utilisé pour réaliser le test en groupe de tolérance à l'hypoxie. Le bac 1 est nommé « Bac hypoxique » et le bac 2 « Bac normoxique ».

2.4. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Statistica (StatSoft, USA). Les histogrammes ont été réalisés à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel. Toutes les variables ont été traitées avec des analyses paramétriques de la variance (ANOVA) après avoir vérifié les conditions de normalité et d'homoscedasticité. Les ANOVA donnant des résultats significatifs ont ensuite été suivies de tests de comparaison multiples post hoc de Newman-Keuls (NK).

Après avoir caractérisé les individus selon leurs catégories de manipulations (HT, LT, ZT), les TCS ont été comparés à l'aide d'une ANOVA factorielle, avec Sexe et Catégorie de manipulation comme facteurs fixes et Bassin en facteur aléatoire. Les analyses ont été réalisées séparément pour TCS_{p1} et TCS_{p2} . Pour les 2 tests individuels (OFT, IS), les variables comportementales ont été comparées à l'aide d'une ANCOVA avec le Sexe (mâle, femelle) et la Catégorie de manipulation (HT, LT, ZT) en facteur fixe et la Masse corporelle et la Longueur en covariables. Les distances parcourues ayant été corrigées par les tailles individuelles, le facteur Taille n'a pas été inclus en covariable pour l'analyse des distances. Pour le test d'hypoxie, les variables d'intérêt ont été comparées à l'aide d'une ANOVA factorielle, avec Sexe et Catégorie de manipulation en facteurs fixes. Des corrélations de Pearson ont été réalisées entre les taux individuels moyens de manipulation (Tm) et les variables d'intérêt de chaque test. Les variables d'intérêts de chaque test ont ensuite été comparées avec les variables du test hypoxie avec des ANOVA en utilisant le statut (tolérants (HR) ou intolérants à l'hypoxie (HA)) et la Catégorie de manipulation (HT, LT, ZT) en facteur fixe.



Le coefficient de variation, calculé comme suit ($CV = 100 \times (\text{écart type} / \text{moyenne})$ en %) a été utilisé comme indice de la variabilité inter-individuelle. Pour tous les tests, le seuil de significativité était $p < 0.05$.

3. Résultats

3.1. Evaluation des performances de croissance.

Le taux de mortalité a été très faible sur la période d'étude (6 individus sur 366 sont morts, soit 1.6 % de mortalité) et le sex-ratio était de 2.1 (244 mâles pour 116 femelles).

Les masses corporelles moyennes initiales (M_i , 375 jpe) et finales (M_f , 479 jpe) étaient respectivement de 46.44 ± 15.47 g et de 70.86 ± 21.81 g. Aucune différence significative n'a été observée entre les bassins (M_i , $F_{(5, 360)} = 0.038$, $p = 0.99$; M_f , $F_{(5, 353)} = 0.622$, $p = 0.68$). Les masses corporelles moyennes initiales et finales des femelles ($M_{i-\text{♀}} = 54.68 \pm 13.51$ g et $M_{f-\text{♀}} = 81.17 \pm 20.80$ g) étaient significativement supérieures à celles des mâles ($M_{i-\text{♂}} = 43.05 \pm 14.73$ g et $M_{f-\text{♂}} = 66.04 \pm 20.63$ g) ($F_{(1, 356)} = 51.262$, $p < 0.001$ et $F_{(1, 356)} = 41.931$, $p < 0.001$ respectivement).

Les masses corporelles initiales et finales ont également été comparées entre elles en fonction des catégories de manipulation. Au début de l'expérience, les poids moyens des poissons étaient significativement différents selon les catégories de manipulation ($F_{(2, 363)} = 3.29$, $p = 0.038$). Les tests de Newman-Keuls ont montré que les individus classés HT avaient une masse corporelle initiale moyenne significativement inférieure à celles des individus ZT ($p = 0.037$) et à celles des individus LT ($p = 0.006$). A la fin de l'expérience, une différence significative entre les poids moyens a de nouveau été observée en fonction des catégories de manipulation ($F_{(2, 356)} = 3.81$, $p = 0.023$). Les tests de Newman-Keuls ont montré que les individus HT avaient une masse corporelle finale moyenne toujours significativement inférieure à celles des individus ZT et LT ($p < 0.01$).

Les TCS_{P1} de tous les individus ont été comparés à l'aide d'une ANOVA. Ni le Sexe, ni la Catégorie de manipulation, ni le Bassin n'ont d'effets sur le TCS_{P1} ($F_{(1, 316)} = 2.42$, $p = 0.12$; $F_{(2, 316)} = 2.007$, $p = 0.136$ et $F_{(5, 316)} = 2.07$, $p = 0.069$ respectivement). Aucun effet du Sexe et de la Catégorie de manipulation n'a été observé sur le TCS_{P2} ($F_{(1, 316)} = 3.588$, $p = 0.059$; $F_{(2, 316)} = 1.26$, $p = 0.285$). Cependant, les TCS_{P2} étaient significativement différents en fonction des bassins ($F_{(5, 316)} = 13.65$, $p < 0.001$, Tableau 1). Les tests de Newman-Keuls ont montré que les individus du B1 et du B2 avaient un taux de croissance supérieur aux autres bassins. Les individus du B2 et du B5 avaient un TCS inférieur à ceux des individus du B1 et du B4, mais supérieurs à ceux des individus du B3 et du B6.

Tableau 1 : Taux de croissance spécifiques (moyenne \pm et) sur les périodes 1 et 2 ainsi que pour la durée totale de l'expérimentation.

Bassin	1	2	3	4	5	6
TCS P1	0.37 \pm 0.19	0.42 \pm 0.22	0.33 \pm 0.17	0.35 \pm 0.22	0.44 \pm 0.16	0.40 \pm 0.18
TCS P2	0.57 \pm 0.15	0.47 \pm 0.18	0.38 \pm 0.13	0.54 \pm 0.16	0.42 \pm 0.15	0.40 \pm 0.16
TCS P1_P2	0.44 \pm 0.15	0.44 \pm 0.15	0.34 \pm 0.14	0.41 \pm 0.16	0.40 \pm 0.16	0.41 \pm 0.14

3.2. Comportement de demande alimentaire

La structure sociale basée sur les taux de manipulation individuels (T_m) observée sur la période d'étude (47 jours) était la suivante : Il y avait en moyenne entre 2 à 4 individus HT par bassin, soit une proportion de $5.3 \pm 1.3\%$ des individus présents dans les bassins (4.9% dans B1, 5.0% dans B2, 6.9% dans B3, 4.9% dans B4, 6.6% dans B5 et 3.3% dans B6). Les individus HT sont responsables en moyenne de $47 \pm 18.7\%$ de l'ensemble des demandes alimentaires à l'échelle du bassin. La proportion d'individus LT était en moyenne de $12.7 \pm 6.1\%$ (respectivement 18.0%, 5.0%, 10.3%, 11.5%, 9.8%, et 21.7% des individus présents dans les bassins B1 à B6). Les individus LT réalisent en moyenne de $26.9 \pm 12.7\%$ des demandes alimentaires totales. Les individus ZT représentent la majorité des individus, soit en moyenne $82.0 \pm 5.4\%$ (77.0% dans B1, 90.0% dans B2, 82.8% dans B3, 83.6% dans B4 et B5 et 75% dans B6) et réalisent $26.1 \pm 7.8\%$ des demandes alimentaires totales.

3.3. Caractérisation des traits de personnalité

3.3.1. Test en zone ouverte avec un refuge (OFT)

Sur les 53 individus testés en OFT, 6 ne sont pas sortis du refuge pendant les 40 minutes de la session test (1 HT, 3 LT et 2 ZT).

La latence pour sortir du refuge ($Latence$), le temps passé dans le refuge (T_{refuge}) et la distance totale parcourue (D_{tot}) ne sont pas significativement différents selon le Sexe ($F_{(1, 40)} = 0.12$, $p = 0.73$; $F_{(1, 40)} = 0.27$, $p = 0.60$ et $F_{(1, 40)} = 0.04$, $p = 0.85$ respectivement) ou la Catégorie de manipulation ($F_{(2, 40)} = 0.37$, $p = 0.69$; $F_{(2, 40)} = 0.14$, $p = 0.87$; $F_{(2, 40)} = 0.33$, $p = 0.72$). La distance moyenne du refuge (D_{refuge}) et le nombre d'aller-retour entre la zone refuge et la zone ouverte ($Freq_{refuge}$) ne sont pas significativement différents selon le Sexe ($F_{(1, 40)} = 1.08$, $p = 0.30$; $F_{(1, 40)} = 0.06$, $p = 0.81$ respectivement) et la Catégorie de manipulation ($F_{(2, 40)} = 0.16$, $p = 0.86$; $F_{(2, 40)} = 1.32$, $p = 0.28$). Les temps passés dans la zone centrale (T_{centre}) et dans la zone périphérique (T_{periph}) ne sont pas différents selon le Sexe ($F_{(1, 40)} = 1.18$, $p = 0.28$; $F_{(1, 40)} = 0.16$, $p = 0.69$ respectivement) ni la Catégorie de manipulation ($F_{(2, 40)} = 0.03$, $p = 0.98$; $F_{(2, 40)} = 0.20$, $p = 0.81$ respectivement).

$Latence$, T_{refuge} , D_{tot} , ne sont pas corrélés avec les taux de manipulation individuel moyen (T_m) ($r_p = -0.09$, $p = 0.51$; $r_p = 0.1718$, $p = 0.25$; $r_p = -0.07$, $p = 0.64$ respectivement). (D_{refuge}) et ($Freq_{refuge}$) ne sont pas corrélés avec le T_m ($r = -0.005$, $p = 0.97$ et $r = -0.04$, $p = 0.79$ respectivement).



3.3.2. Test d'interactions sociales

T_{Cong} , T_{OpCong} et $T_{\text{Départ}}$ ont été comparés en fonction du Sexe et de la Catégorie de manipulation en mettant le poids et la longueur en covariables (Figure 4). Aucune de ces 3 variables ne diffèrent significativement selon le Sexe ($F_{(1, 39)} = 0.87$, $p = 0.36$; $F_{(1, 39)} = 0.53$, $p = 0.47$; $F_{(1, 39)} = 0.21$, $p = 0.64$ respectivement) et la Catégorie de manipulation ($F_{(2, 39)} = 1.75$, $p = 0.19$; $F_{(2, 39)} = 0.16$, $p = 0.86$ et $F_{(2, 39)} = 0.62$, $p = 0.54$ respectivement, Figure 4) . D_{tot} et V_{ang} ne sont pas significativement différentes en fonction du Sexe ($F_{(1, 40)} = 1.06$, $p = 0.31$; $F_{(1, 39)} = 0.88$, $p = 0.35$ respectivement) ou de la Catégorie de manipulation ($F_{(2, 40)} = 1.43$, $p = 0.25$; $F_{(2, 39)} = 1.27$, $p = 0.29$ respectivement).

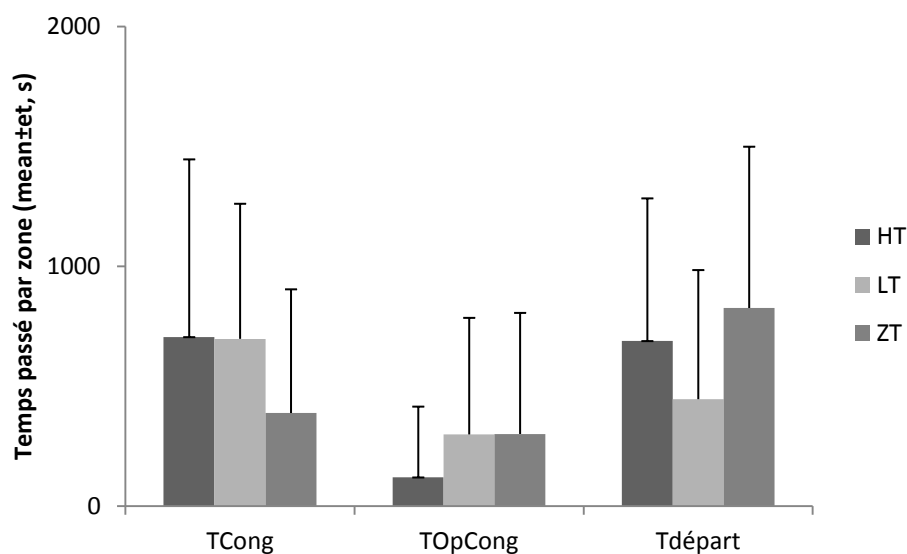


Figure 4 : Graphique représentant les temps passés par zone lors du test de sociabilité selon les catégories de manipulation (moyenne \pm écart type).

Les corrélations entre les variables T_{Cong} , T_{OpCong} , $T_{\text{Départ}}$ et les taux de manipulation individuel moyen (T_m) ont été analysées avec des corrélations de Pearson. Le temps passé dans la zone proche du congénère (T_{Cong}) est significativement corrélé positivement avec le taux individuel moyen de manipulation ($r_p = 0.36$, $p = 0.01$). T_{OpCong} n'est pas corrélé avec T_m ($r_p = -0.14$, $p = 0.35$). Enfin, les variables $T_{\text{Départ}}$, D_{tot} et V_{ang} ne sont pas non plus corrélées avec T_m ($r_p = -0.17$, $p = 0.24$; $r_p = 0.005$, $p = 0.97$ et $r_p = 0.28$, $p = 0.53$ respectivement).

T_{OpCong} est corrélé positivement avec la taille (L), la masse corporelle (M) et le taux de croissance spécifique (TCS_{P1}) ($r_p = 0.40$, $p = 0.005$; $r_p = 0.44$, $p = 0.002$ et $r_p = 0.29$, $p = 0.045$ respectivement). Ce n'est pas le cas pour les variables T_{Cong} , $T_{\text{Départ}}$, D_{tot} et V_{ang} ($p > 0.05$ pour chacune de ces variables).

Les temps passés dans la zone T_{Cong} et T_{OpCong} ont été comparés au moyen de test t pour chaque catégorie de manipulation. Les Individus HT passent significativement plus de temps dans la T_{Cong} que dans la zone T_{OpCong} ($t = 2.80$, $p = 0.01$, Figure 5).

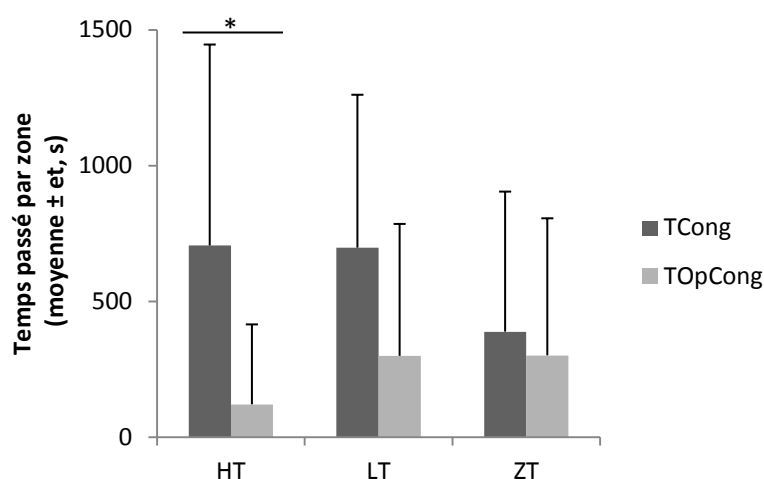


Figure 5 : Comparaison des temps passés dans la zone proche (T_{Cong}) et opposée (T_{OpCong}) au congénère en fonction des catégories de manipulation (moyenne \pm écart type).

3.3.3. Test de tolérance à l'hypoxie

Sur les 360 individus passés en test d'hypoxie, 128 sont sortis du bac hypoxique pour aller vers le bac normoxique, soit 36 % d'individus HA contre 64 % d'individus HR. Le tableau 2 représente la proportion d'individu HA et HR par catégorie de manipulation sur l'ensemble des individus.

Tableau 2 : Proportions (en %) d'individus tolérants et intolérants à l'hypoxie selon les catégories de manipulation pour l'ensemble des individus testés.

	HT	LT	ZT
HA	1.1	5.0	29.4
HR	3.9	7.8	52.8

Le tableau 3 représente les proportions d'individus tolérants et intolérants à l'hypoxie seulement pour le sous échantillon caractérisé dans chacun des tests (OFT, Sociabilité et Hypoxie).



Tableau 3 : Proportions (en %) d'individus caractérisés dans les tests d'OFT et sociabilité étant tolérants et intolérant à l'hypoxie selon les catégories de manipulation.

	HT	LT	ZT
HA	8.3	10.4	6.3
HR	27.1	12.5	35.4

Le temps de latence avant le premier passage vers le bac normoxique (Latence), le taux d'oxygène lorsqu'un individu passe pour la première fois du bac hypoxique au bac normoxique ($[O_2]_{\text{Sortie}}$ en %) et le nombre d'aller-retour entre les deux bacs (Nb passages) ne sont pas significativement différents selon le Sexe ($F_{(1, 336)} = 0.11$, $p = 0.75$; $F_{(1, 336)} = 0.001$, $p = 0.97$ et $F_{(1, 336)} = 0.42$, $p = 0.52$ respectivement) ou la Catégorie de manipulation ($F_{(2, 336)} = 0.74$, $p = 0.48$; $F_{(2, 336)} = 0.94$, $p = 0.39$ et $F_{(2, 336)} = 2.63$, $p = 0.73$ respectivement).

Le taux de manipulation individuel moyen (Tm) n'est corrélé ni avec la latence, ni avec le taux individuel d'oxygène de sortie ($[O_2]_{\text{Sortie}}$ en %), ni avec le nombre d'aller-retour entre les 2 bacs (Nb passages) ($r_p = 0.02$, $p = 0.71$; $r_p = -0.05$, $p = 0.33$ et $r_p = -0.01$, $p = 0.62$ respectivement).

Le tableau 4 représente la variabilité inter-individuelle pour chaque variable d'intérêt, pour chaque test et chaque catégorie de manipulation.

Tableau 4 : Variabilité inter-individuelle pour les variables d'intérêts de chaque test (moyenne \pm écart type) et coefficient de variation (CV en %).

		Catégorie de manipulation					
		HT		LT		ZT	
Test comportemental	Variables d'intérêt	moyenne \pm et	CV	moyenne \pm et	CV	moyenne \pm et	CV
Open Field (OF)	Latence (s)	881.7 \pm 576.7	65.4	1173.0 \pm 877.5	74.8	1035.5 \pm 748.4	72.3
	Trefuge (s)	1450.2 \pm 684.6	47.2	1126.3 \pm 688.0	61.1	1154.8 \pm 774.0	67.0
	Dtot (LC)	457.9 \pm 396.3	86.6	578.9 \pm 362.6	62.6	491.8 \pm 282.3	57.4
Interaction sociale (IS)	TCong (s)	705.5 \pm 740.1	104.9	697.5 \pm 563.0	80.7	388.2 \pm 515.7	132.8
	TOpCong (s)	120.5 \pm 294.4	244.3	299 \pm 485.8	162.5	300.8 \pm 504.8	167.8
	TDépart (s)	689.0 \pm 594.0	86.2	445.9 \pm 538.2	120.7	826.0 \pm 672.3	81.4
	Vang (*.s-1)	2334.2 \pm 338.9	14.5	2126.8 \pm 392.8	18.5	2182.2 \pm 440.2	20.2
	V (LC.s-1)	0.2 \pm 0.1	40.2	0.2 \pm 0.1	49.9	0.2 \pm 0.1	54.8
Hypoxie	Dtot (LC)	306.6 \pm 123.3	40.2	339.0 \pm 169.3	49.9	288.9 \pm 158.4	54.8
	Latence (s)	3099.8 \pm 456.4	14.7	2904.8 \pm 590.3	20.3	2905.1 \pm 681.7	23.5
	[O ₂] Sortie (%)	8.1 \pm 2.6	32.5	9.5 \pm 3.8	40.4	10.3 \pm 7.8	71.9
	Nb passages	0.2 \pm 0.6	239.0	0.8 \pm 2.1	263.0	0.4 \pm 0.8	186.7

3.4. Comparaison entre les tests

Seules les variables donnant des résultats significatifs sont présentées dans cette partie.

3.4.1. Comparaison des comportements observés lors du test en zone ouverte (OFT) et du test de tolérance à l'Hypoxie

L'activité en OFT (représenté par la distance parcourue (D_{tot} en LC)) a été comparée entre les deux groupes (HA, HR). Les individus proactifs (HA) ont une activité (D_{tot}) supérieure aux individus HR lors du test d'exploration (OFT) ($F_{(1,44)} = 4.35$, $p = 0.04$). Il en est de même pour le nombre d'aller retour entre la zone ouverte et le refuge ($F_{(1,44)} = 5.04$, $p = 0.03$).

3.4.2. Comparaison des comportements observés lors du test de sociabilité et du test de tolérance à l'Hypoxie

Les individus qualifiés d'HA ont une activité (D_{tot}) supérieure aux individus HR lors du test de sociabilité ($F_{(1,46)} = 4.12$, $p = 0.048$). Ils ont aussi une nage moins complexe (V_{ang}) que les individus HR ($F_{(1,46)} = 6.67$, $p = 0.01$). Autrement dit, les poissons réactifs ont une nage plus complexe que les proactifs.

Les individus ayant une faible latence de sortie lors du test hypoxique ont parcouru plus de distance (plus actifs) lors du test de sociabilité ($r_p = -0.36$, $p = 0.02$). Plus les individus ont une latence importante et plus leur nage est complexe ($r_p = 0.37$, $p = 0.01$). Les taux d'oxygène individuels lors du premier passage dans le bac normoxique ($[O_2]_{Sortie}$) sont positivement corrélés avec l'activité (D_{tot}) en sociabilité ($r_p = 0.38$, $p = 0.007$). L'activité des individus lors du test hypoxique (nombre de passages entre le bassin hypoxique et normoxique) est corrélée positivement avec l'activité en sociabilité (D_{tot}) ($r_p = 0.35$, $p = 0.015$). Les taux d'oxygène individuels lors du premier passage dans le bac normoxique ($[O_2]_{Sortie}$) sont corrélés négativement avec la vitesse angulaire (V_{ang}) lors du test de sociabilité ($r_p = -0.37$, $p = 0.01$).

3.4.3. Comparaison des comportements observés lors du test en zone ouverte (OFT) et lors du test de sociabilité.

L'activité (D_{tot}) lors du test OFT est corrélée positivement avec le temps passé dans la zone opposée au congénère ($r_p = 0.51$; $p < 0.001$). Les individus les plus actifs en OFT passent moins de temps dans la zone de sociabilité.

4. Discussion

Dans la présente étude, nous avons suivi pendant 47 jours les comportements de demande alimentaire de bars européens âgés de 381 jours post éclosion, puis classé les individus en trois catégories selon leurs taux individuels moyen de manipulation. Nous avons par la suite caractérisé un sous échantillon d'individus appartenant aux trois catégories de



manipulation (HT, LT et ZT) avec un test évaluant l'audace, l'activité et l'exploration (test individuel d'exploration en zone ouverte (OFT)) puis au travers d'un test individuel évaluant les niveaux de sociabilité de ces mêmes individus. Enfin, nous avons caractérisé le caractère proactif-réactifs de l'ensemble des individus en évaluant leur tolérance et leur réaction face à des conditions d'hypoxie. Nous avons ensuite évalué les liens entre les deux tests individuels et le test en groupe. L'objectif de cette étude était d'évaluer le lien entre la tolérance à l'hypoxie en situation de groupe, et trois axes de la personnalité (l'audace, l'exploration et la sociabilité) déterminés en situation individuelle, tout en évaluant les interactions pouvant exister avec les stratégies d'approvisionnement en nourriture en conditions expérimentales d'auto-alimentation.

Nous avons observé que les individus manipulateurs (HT) avaient une masse corporelle inférieure aux individus non manipulateurs (ZT), et ce tout au long de l'étude. Nos résultats n'ont pas permis d'identifier de différences comportementales entre les catégories de manipulation concernant le comportement en zone ouverte. Cependant, nous avons pu démontrer qu'il existait un lien entre les taux individuels de manipulation et les niveaux de sociabilité des individus observés lors du test d'interactions sociales. Enfin, nous avons mis en évidence l'existence d'un syndrome comportemental entre les comportements observés dans les tests individuels et dans le test en groupe. Les individus caractérisés comme étant proactifs par le test en hypoxie se sont avérés avoir des comportements différents dans les tests individuels en particulier en terme d'activité.

4.1. Structure sociale et performances de croissance

La structure sociale observée, basée sur le comportement de demande alimentaire, est cohérente avec la littérature (Millot et al., 2008 ; Ferrari et al., (article IV - Chap 5)), avec en moyenne une proportion de 5.3 % d'individus manipulateurs par bassin, responsables de 47 % de l'activité totale de manipulation (5.1 % de HT responsables de 45 % de l'activité totale de manipulation dans Ferrari et al., article IV – Chap 5). Ni le sexe, ni la catégorie de manipulation n'ont d'effets sur les taux de croissance spécifiques ce qui encore coïncide avec la littérature (Covès et al., 2006; Benhaïm et al., 2012). En revanche, nous avons observé que les individus manipulateurs (HT) avaient une masse moyenne significativement inférieure à celle des individus des catégories LT et ZT, ce qui n'était pas le cas dans les études précédentes (Covès et al., 2006; Di-Poï et al., 2007; Di-Poï et al., 2008) et témoigne du caractère particulier de cette population. Cette différence de masse pour les individus manipulateurs s'est maintenue tout au long de l'expérience, soulignant le fait que les individus manipulateurs n'ont bénéficié d'aucun avantage de croissance de par leur statut. Ceci conforte l'hypothèse d'une stratégie de coopération basée sur la spécialisation des individus (la théorie des producteurs-chapardeurs (Giraldeau and Beauchamp, 1999; Coolen et al., 2001; David et al., 2011). Chez le bar, cette hypothèse a été émise par (Di-Poï et al., 2008) puis développée par Ferrari et al., (sous presse - article IV –Chap 5).

4.2. Test en zone ouverte (OFT)

Les différents comportements observés lors de l'OFT n'étaient pas différents selon les catégories de manipulation, contrairement aux résultats de l'étude de Ferrari et al., (sous presse - article IV - Chap5). En effet, ces derniers ont montré l'existence d'un lien entre les taux de manipulations individuels, l'audace et l'exploration des individus caractérisés en OFT. Ceci pourrait être expliqué par le fait que le protocole utilisé dans la présente étude est sensiblement différent de celui utilisé dans Ferrari et al., (sous presse - article IV – Chap5). Le temps d'exploration observé était de 20 min dans l'étude précédente contre 40 minutes dans la présente étude. Il se peut que les différences comportementales aient ainsi été atténuées par ce temps plus long. Autrement dit, il est possible que des différences comportementales s'expriment de manière plus prononcées au début du test (dans les 20 premières minutes), mais qu'après un certain temps, les individus étant mieux acclimatés au dispositif nagent davantage. Ceci pourrait gommer les différences inter-individuelles qui sont évaluées sur des valeurs moyennes, comme cela a été démontré chez le poisson zèbre, *Danio rerio* (Oswald et al., 2013). Ces derniers ont observé que dans une lignée divergente pour l'audace, les individus différaient dans leur comportement dans un test en zone ouverte seulement au début de l'expérience. Lorsque les individus étaient acclimatés au dispositif, aucune différence comportementale n'était observée entre les deux lignées. Cependant, bien que le protocole ne soit pas exactement le même, l'audace (temps mis pour émerger de la zone refuge) aurait dû, en théorie, être corrélée aux taux individuels de manipulation, ce qui n'est pas le cas ici. Une autre hypothèse pourrait être liée au fait que les histoires de vie des animaux et leurs âges étaient différents. Ces paramètres ont un impact démontré sur le comportement du bar Ferrari et al., (article II – Chap 2). Enfin, les corrélations ne sont pas causatives : bien qu'un lien ait été démontré entre l'audace et les taux de manipulation, il est évident que de nombreux autres facteurs influencent cette structure sociale. Il est important de garder à l'esprit que les catégories LT et ZT représentent 95 % de la population. En considérant la variabilité individuelle existant au sein d'un groupe, il est fort probable que différents types de personnalité soient représentées au sein de ces deux catégories. Autrement dit, rien n'exclut que certains individus ZT et LT soient caractérisés par des traits de timidité plus accentués que ceux des individus HT testés.

4.3. Test de sociabilité

Les comportements observés lors du test de sociabilité ne se sont pas révélés différents selon les catégories de manipulation. En revanche, lorsqu'on ne prend pas en compte ces catégories, et que l'on analyse le lien entre taux de manipulation et les variables comportementales testées, on observe une corrélation positive entre le temps passé dans la zone proche du congénère (qui est un proxy de la sociabilité) et les taux individuels de manipulation. Plus les individus ont un taux de manipulation élevé, plus ils passent de temps dans la zone proche du congénère. Par ailleurs, au sein des catégories de manipulation, les individus HT passent significativement plus de temps dans la zone proche du congénère que



dans la zone opposée au congénère alors qu'il n'y a pas de différences d'occupation de ces deux zones pour les catégories ZT et LT. Ceci signifie qu'il existe une préférence pour la zone sociale chez les individus HT. Comme le décrivent (Réale et al., 2007), les individus sociaux recherchent la présence de conspécifiques alors que les individus asociaux vont plutôt les éviter. Les individus manipulateurs seraient donc plus sociaux que les individus non manipulateurs. Enfin, le temps passé dans la zone opposée au congénère (proxy de l'asociabilité) est corrélé positivement avec la taille et la masse des individus. Autrement dit, plus les individus sont grands et gros, plus ils passent de temps dans la zone considérée comme non sociale. Ceci va aussi dans le sens des résultats énoncés dans la section catégorie de manipulation et performance de croissance où nous avons observé que les individus manipulateurs étaient plus petits que les non manipulateurs. Les résultats de cette étude ont donc permis de confirmer l'existence d'un lien entre le taux de manipulation et un des axes de la personnalité, ici la sociabilité.

4.4. Test de tolérance à l'hypoxie

Les comportements observés lors du test de tolérance à l'hypoxie ne se sont pas révélés différents selon le sexe ou la catégorie de manipulation. Les latences moyennes avant le premier passage dans le bac normoxique sont globalement du même ordre de grandeur que les latences observées par Ferrari et al., (article II – Chap 2). Les taux d'oxygène moyens lors de la première sortie étaient bien inférieurs à ceux observés dans l'étude précitée (30.6 % de saturation en oxygène dans Ferrari et al., (article II – Chap 2) contre 8.1 % dans la présente étude. Ceci souligne la variabilité des réponses observées selon les populations étudiées, leur histoire de vie et leur âge ainsi que le caractère probablement plus réactif de cette population. Le test de tolérance à l'hypoxie permet d'identifier les individus de personnalités divergentes (proactives-réactives), et ce test est un proxy des besoins métaboliques individuels. En effet, les individus intolérants à l'hypoxie sont ceux ayant des besoins supérieurs en oxygène (probablement en raison de leur métabolisme plus élevé). L'absence de lien observé entre les taux individuels d'oxygène lors du premier passage dans la zone normoxique et les taux de manipulations individuels laisse supposer que l'activité de manipulation n'est pas liée aux besoins énergétiques des individus (et donc à leur motivation alimentaire) comme démontré par (Benhaïm et al., 2012).

4.5. Syndrome comportemental

Les individus classés proactifs par le biais du test de tolérance à l'hypoxie ont montré des comportements différents dans chacun des tests individuels utilisés (OFT et sociabilité). Lors de l'OFT, les individus proactifs avaient une distance parcourue et un nombre d'aller-retour dans la zone refuge supérieurs à ceux des individus caractérisés comme réactifs. Lors du test de sociabilité, ils avaient une distance parcourue supérieure aux autres. Ceci confirme la validité du test de tolérance à l'hypoxie pour caractériser les individus proactifs, tel que démontré par Ferrari et al., (article II – Chap 2). Le lien observé entre les niveaux

individuels d'activité lors de ces trois tests montre 1) que l'activité est un comportement cohérent à travers le temps et les situations et est représentatif du caractère proactif chez le bar (comme déjà démontré par Ferrari et al., article II – Chap 2), et 2) qu'un test en groupe peut être prédictif du comportement observé lors d'un test individuel (comme déjà démontré dans Ferrari et al ; poster - Chap 3).

5. Conclusion

La structure sociale observée est cohérente avec les études précédentes, mis à part que dans cette étude, nous avons observé que les individus manipulateurs avaient une masse inférieure à celles des individus appartenant aux autres catégories. Cependant, nous n'avons pas observé les mêmes résultats que Ferrari et al. (Article IV – Chap 5) concernant l'audace et l'exploration lors du test en zone ouverte. Par ailleurs, pour la seconde fois, nous avons mis en évidence l'existence d'un lien entre le comportement de demande alimentaire en condition d'auto-alimentation et un des axes de la personnalité (ici la sociabilité). Ceci conforte l'hypothèse d'un lien entre personnalité et comportement de demande alimentaire, ainsi que celle de l'existence d'une stratégie de coopération entre les individus, les manipulateurs n'ayant pas tiré avantage de leur statut en termes de croissance. D'autres recherches sont cependant nécessaires afin de mieux caractériser et comprendre la mise en place de cette structure sociale ainsi que celle de l'acquisition du statut manipulateur. Il serait intéressant de manipuler la composition des groupes (i.e. la personnalité) et d'étudier la mise en place de la structure sociale.



Références bibliographiques

- Benhaïm, D., Bégout, M.-L., Péan, S., Brisset, B., Leguay, D., Chatain, B., 2012. Effect of fasting on self-feeding activity in juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Applied Animal Behavior Science* 136, 63-73.
- Brown, C., Burgess, F., Braithwaite, V., 2007. Heritable and experiential effects on boldness in a tropical poeciliid. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62, 237-243.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceicao, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Coolen, I., Giraldeau, L.-A., Lavoie, M., 2001. Head position as an indicator of producer and scrounger tactics in a ground-feeding bird. *Animal Behavior* 61, 895-903.
- Cote, J., Fogarty, S., Sih, A., 2012. Individual sociability and choosiness between shoal types. *Animal Behavior* 83, 1469-1476.
- Covès, D., Beauchaud, M., Attia, J., Dutto, G., Bouchut, C., Bégout Anras, M.L., 2006. Long-term monitoring of individual fish triggering activity on a self-feeding system: An example using European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 385, 385-392.
- David, M., Cézilly, F., Giraldeau, L.-A., 2011. Personality affects zebra finch feeding success in a producer–scrounger game. *Animal Behavior* 82, 61-67.
- Di-Poï, C., Attia, J., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Beauchaud, M., 2007. Behavioral and neurophysiological responses of European seabass groups reared under food constraint. *Physiology & behavior* 90, 559-566.
- Di-Poï, C., Beauchaud, M., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Attia, J., 2008. Effects of high food demand fish removal in groups of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Canadian Journal of Zoology* 86, 1015-1023.
- Ferrari, S., 2014. Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez le bar européen, *Dicentrarchus labrax*. Thèse de Doctorat.
- Ferrari, S., Chatain, B., Cousin, X., Leguay, D., Vergnet, A., Vidal, M.-O., Vandeputte, M., Bégout, M.-L., 2014. Early individual electronic identification of seabass using RFID microtags: A first example of early phenotyping of sex-related growth. *Aquaculture* 426–427, 165-171.
- Giraldeau, L.A., Beauchamp, G., 1999. Food exploitation: searching for the optimal joining policy. *Trends in Ecology & Evolution* 14, 102-106.
- Kaidanovich-Beilin, O., Lipina, T., Vukobradovic, I., Roder, J., Woodgett, J.R., 2011. Assessment of Social Interaction Behaviors. e2473.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Krause, J., Ruxton, G.D., 2002. *Living in groups*. Oxford University Press.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Person-Le Ruyet, J., Breuil, G., Di-Poï, C., Fievet, J., Pineau, P., Roué, M., Sévère, A., 2008. Feed demand behavior in seabass juveniles: effects on individual specific growth rate variation and health (inter-individual and intergroup variation). *Aquaculture* 274, 87-95.
- Oswald, M.E., Singer, M., Robison, B.D., 2013. The Quantitative Genetic Architecture of the Bold-Shy Continuum in Zebrafish, *Danio rerio*. <http://www.w3.org/1999/xlink> content-type="genus-species" xlink:type="simple">Danio rerio</named-content>. *PLoS ONE* 8, e68828.
- Pulliam, R., Caraco, T., 1984. Living in groups: is there an optimal group size?, in: Krebs, J.R., Davies, N.B. (Eds.), *Behavioral Ecology: an evolutionary approach*, Sinauer.

- Réale, D., Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Wright, J., 2010. Evolutionary and ecological approaches to the study of personality. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 3937-3946.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291-318.
- Sih, A., Bell, A., Chadwick Johnson, J., 2004a. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 372-378.
- Sih, A., Bell, A.M., Johnson, J.C., Ziemba, R.E., 2004b. Behavioral Syndromes: An Integrative Overview. *The Quarterly Review of Biology* 79, 241-277.
- Van Raaij, M.T.M., Pit, D.S.S., Balm, P.H.M., Steffens, A.B., Van den Thillart, G., 1996. Behavioral strategy and the physiological stress response in rainbow trout exposed to severe hypoxia. *Horm. Behav.* 30, 85-92. *Hormone and Behavior* 30, 85-92.
- Wilson, D.S., Clark, A.B., Coleman, K., Dearstyne, T., 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 442-446.
- Wolf, M., Van Doorn, S., Leimar, O., Weissing, F.J., 2007. Life-history trade-offs favour the evolution of animal personalities. *Nature*, 581-585.

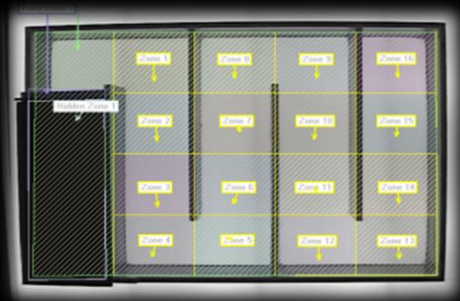
Partie 3:

Facteurs influençant la personnalité et les réponses comportementales.

Chapitre 7:

Article VI : Does unpredictability in food supply during early life influence growth, hypoxia tolerance and boldness in European Seabass selected for fasting tolerance?

Aquaculture, submitted



Capture d'écran Ethovision du labyrinthe utilisé pour analyser l'audace et l'exploration des individus.

Ferrari Sébastien

Leguay Didier

Vergnet Alain

Vidal Marie-Odile

Chatain Béatrice

Marie Laure Bégout

Avec ce chapitre, commence la troisième partie de cette thèse qui est une réflexion sur les facteurs influençant les traits de personnalité. D'abord je présenterai un facteur abiotique environnemental qui est la disponibilité en nourriture puis un facteur biotique qui est l'origine familiale des individus.

Après la réalisation de l'étude correspondant au chapitre 2, il est apparu évident que différents facteurs influençaient la personnalité. Selon la théorie, un trait de personnalité est cohérent dans le temps et au travers des situations. Il ne fait aucun doute que les tests réalisés mettaient en avant des personnalités contrastées, mais pourquoi n'étaient-elles pas stables dans le temps ? J'ai donc voulu savoir si des facteurs environnementaux pouvaient être à l'origine des différences de personnalité. L'audace est le trait de personnalité partagé par le plus grand nombre de taxons et il a été démontré comme lié au métabolisme et aux besoins énergétiques des individus. En conséquence, il m'a semblé que l'acquisition de nourriture, phénomène essentiel pour la survie, devait avoir une part non négligeable dans le développement de la personnalité et les travaux de Chapman et al. (2010) m'ont conforté dans cette voie. Sachant que tout individu dans sa recherche de nourriture doit explorer son environnement et prendre des risques, une expérience évaluant les effets de l'approvisionnement en nourriture et caractérisant l'audace et l'exploration serait un bon moyen de mettre en avant l'effet d'un facteur environnemental sur le développement de la personnalité. Cette étude correspond à l'article suivant, intitulé *Does unpredictability in food supply during early life influence growth, hypoxia tolerance and boldness in European Seabass selected for fasting tolerance?*

Cette étude a fait l'objet d'une présentation sous forme de poster à la conférence annuelle de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal en 2014 à Paris (France).

Résumé de l'Article VI:

La variabilité biologique n'est plus considérée comme un bruit statistique, mais plutôt comme une valeur adaptative. Cette variabilité est issue de différences interindividuelles comportementales et physiologiques cohérentes dans le temps, appelées *coping style*, *tempérament* ou *personnalité*. De nombreuses études décrivent comment caractériser la personnalité à travers le temps et les situations, mais très peu s'intéressent aux facteurs à la base du développement de cette dernière. Ce nombre relativement faible d'études concernant le développement de la personnalité est dû au fait que de nombreux travaux suggèrent que les gènes jouent un rôle prédominant, ce qui conduit à penser que la personnalité est stable dans le temps. Dans la plupart des cas, elle est déterminée non seulement par les gènes, mais aussi par l'expérience individuelle qui est probablement aussi importante que la base génétique. Nous avons élevé des juvéniles de bar (âgés de 95 jours post éclosion, jpe) appartenant à deux lignées divergentes sélectionnées pour la tolérance au jeûne dans des conditions standard pendant 40 jours, puis nous les avons soumis à deux traitements alimentaires, commençant à 135 jpe et durant 60 jours. Ces deux groupes ont été soumis à un test en open field et à un test de tolérance à l'hypoxie avant et après les traitements alimentaires. Nous avons observé que les bars élevés avec un approvisionnement en nourriture prévisible pendant leur stade juvénile montraient une croissance supérieure et des comportements moins audacieux que ceux élevés avec un approvisionnement en nourriture imprévisible : ils mettaient plus de temps à émerger d'un refuge. Nous avons en plus de cela ajouté une dimension physiologique en les caractérisant selon leur tolérance à l'hypoxie. Nous avons démontré que les réponses comportementales observées lors du test de tolérance à l'hypoxie restaient stables avant et après les traitements alimentaires, tout comme leurs tendances exploratoires contrairement à leurs degrés d'audace (temps pour émerger du refuge). Nous avons ainsi mis en évidence l'importance de l'expérience individuelle pendant les premiers stades de vie comme facteur important dans le développement de la personnalité (ici l'audace). Par ailleurs, nous avons aussi démontré que les horaires d'alimentation devraient être pris en considération lors d'études visant à caractériser des fonctions essentielles telles que la croissance et le comportement. Bien que les traits de personnalité soient en partie héréditaires, cette étude met en avant l'importance non négligeable des conditions environnementales et de l'histoire de vie comme composants du comportement.

Does unpredictability in food supply during early life influence growth, hypoxia tolerance and boldness in European Seabass selected for fasting tolerance?

Aquaculture, submitted

Sébastien Ferrari^{ab}, Didier Leguay^a, Alain Vergnet^b, Marie Odile Vidal^b, Béatrice Chatain^{bc},
Marie-Laure Bégout^a

Correspondence should be addressed to: sebferrari@hotmail.fr

a) Ifremer, Place Gaby Coll, BP7, 17137 L'Houmeau, La Rochelle, France

b) UMR 110 INTREPID, Ifremer-Cirad, 34000 Montpellier, France

c) Station Expérimentale d'Aquaculture Ifremer, Laboratoire de Recherche Piscicole de Méditerranée, Chemin de Maguelone, 34250 Palavas-Les-Flots, France

Abstract

Biological variability is no longer considered as statistical noise, but rather as an adaptive added-value. This variability comes from consistent individual differences mainly expressed in behavioral and physiological responses, named “coping style”, “temperament” or “personality”. Numerous studies describe how to characterize personality traits and how to assess consistency over time and across context, but literature is relatively scarce concerning factors shaping personality development. The relatively low number of studies on personality development is due to the widespread assumption that genes play a predominant role leading to think that personality should be temporally stable. In most cases, personality traits are however likely to be determined not just by genes but also by individual experience which is probably at least as important as genetics in shaping personality. We reared juvenile seabass from two divergent strains selected for feed deprivation tolerance (95 days old) under standard conditions during 40 days and then we submitted them to two feeding treatments starting at 135 dph and during 60 days. We observed that seabass reared under predictable food supply (PFS) during early life showed higher growth and shyer behavior than fish reared under unpredictable food supply (UFS): they took more time to exit a refuge zone. We added a physiological dimension by screening fish according to their hypoxia tolerance. We observed that behavioral responses during hypoxia tests were consistent before and after the two feeding treatments, as well as exploration tendency, contrary to boldness (i.e. time to exit a refuge zone). We have shown the importance of early experience as a driving force shaping behavior (herein boldness). In addition, we again showed evidence that feeding time should be taken into account for studies assessing essential functions such as growth and behavior. Although personality traits are partially heritable, this study highlights the non negligible importance of environmental conditions and the life history component of behavior.

Key words: Personality, environmental effect, behavior, exploration, *Dicentrarchus labrax*.



1. Introduction

Biological variability is no longer considered as statistical noise, but rather as an adaptive added-value (Wolf et al., 2007; Castanheira et al., 2013). This variability comes from consistent individual differences mainly expressed in behavioral and physiological responses, named “coping style”, “temperament” or “personality” (Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004a; Réale et al., 2007). It covers numerous traits, such as aggressiveness, avoidance of novelty, propensity to take risks, exploration and sociability (Réale et al., 2007). One of the most studied axes of personality is the shyness-boldness continuum (propensity to take risks) (Bell, 2007), since it occurs in a wide range of taxa (Coleman and Wilson, 1998). Bold individuals have been characterized as more aggressive/dominant, faster to approach a novel object, more risk takers and they explore their environment faster when exposed to novelty (Koolhaas et al., 1999; Sih et al., 2004a; Korte et al., 2005; Øverli et al., 2006b; Frost et al., 2007; MacKenzie et al., 2009; Réale et al., 2010a), they tend to develop behavioral routine *i.e.* have lower behavioral flexibility (Bolhuis et al., 2004; Coppens et al., 2010; Ruiz-Gomez et al., 2011) and are also less attentive to their environment (Verbeek et al., 1994). In contrast, shy individuals tend to be risk adverse and are generally neophobic (Verbeek et al., 1994; Wilson et al., 1994), they show a higher behavioral flexibility (Bolhuis et al., 2004) and are more responsive to their environment (Verbeek et al., 1994). Intermediate individuals which often represent a large part of the tested populations show responses that are in between these two extremes. In fish, different methods exist for measuring boldness such as the restraint test (Arends RJ et al., 1999), the social dominance challenge (Vaz-Serrano et al., 2011), the novel object test (Frost et al., 2007; White et al., 2013) or the measure of the willingness to approach predators (Godin and Dugatkin, 1996). Exploration behavior or the latency to leave a safe area to explore a novel, less safe area (Budaev et al., 1999a; b; Fraser et al., 2001; Brown et al., 2007; Biro et al., 2010; Eriksson et al., 2010) are now also accepted as usual proxy for measuring the boldness of a fish.

As seen above, numerous studies describe how to characterize personality traits (reviewed in Toms et al., 2010; Budaev and Brown, 2011) and other studies have focused on assessing consistency over time and across context (by repeating the same tests and combining different tests respectively, reviewed in Bell et al., 2009), but literature is relatively scarce concerning factors affecting personality development (shaping these personality traits). As reported in Stamps and Groothuis, 2010), the relative low number of studies on personality development is due to the widespread assumption that genes play a predominant role leading to think that personality should be temporally stable. Indeed, genes have a major role in personality, since two main behavioral strategies persist over the course of evolution, and some studies have found heritability of some behavioral and /or physiological traits associated with personality (Fevolden et al., 1993b; Dingemanse et al., 2002; Fevolden et al., 2002a; van Oers et al., 2004; Wright et al., 2006; Christensen et al., 2014; Millot et al., 2014). In most cases, personality traits are however likely to be

determined not just by genes but also by individual experience (Sih et al., 2004a) leading to think that experience is probably at least as important as genetics in shaping personality (Fox and Millam, 2004).

Learning is closely linked with experience and as such could also drive behavioral profiles. Learning term refers to a change in behavior with experience (Dill, 1983). In the study of (Milot et al., 2009b), they subjected European seabass (*Dicentrarchus labrax*) to a risk taking test 3 times 30 days apart (24 h each, with day/night alternation). Seabass completely changed their behavior between the first and the second session of the test. The first time, few fish went in the risky zone. When they did it for the first time, they swam very fast and banged in the tank wall, then stayed thigmotaxic in a tank corner. The second time, fish swam in the risky zone very slowly, finding the opening in the divider without difficulty and passed in and out the risky zone continuously and slowly. In addition, the proportion of fish entered in the risky area changed from $23 \pm 7\%$ of the population in the first session to reached $89 \pm 3\%$ the second session. The third time, behavior was almost the same than during the second one, indicative of learning and habituation to the situation. Indeed, undergone experiences as juveniles or adults may have strong and lasting effects on personality and other behavioral traits (reviewed in Stamps and Groothuis, 2010). Experiences can themselves be in relation with abiotic or biotic factors and will be exemplified hereafter.

Several studies have shown that different abiotic factors are shaping or influencing coping style, such as temperature: an increase in temperature of less than 3°C affects metabolic rate, resulting in higher activity, higher feeding rate but also increases the cost of predation (Biro et al., 2010). Even small within day increase of few degree have dramatic effects on mean activity level, boldness and aggressive behavior. Hypoxia also impact activity and metabolism two components of animal personality (Killen et al., 2011b; Frost et al., 2013), as well as carbon dioxide level (Bonga, 1997; Jutfelt et al., 2013). Further, several different studies showed that different behavioral responses to hypoxia have been associated with personality traits (Van Raaij et al., 1996; Brelin et al., 2005; Castanheira et al., 2013b), Ferrari et al., submitted – Chap. 2). Castanheira and collaborators showed that bolder Gilthead seabream, *Sparus aurata*, escaped hypoxic conditions sooner than shy ones and similar observations were made for seabass (Ferrari et al., submitted – Chap. 2). Another factor influencing coping style is the environment heterogeneity: Animals of the same species leaving in different habitats differ in their behavior, physiology and morphology (Brelín et al., 2008). These authors showed behavioral and physiological differences between animal from homogenous and heterogeneous environments, although multiple optima can exist within single habitats and individual can express different optimal behavior within the same habitat (Mangel and Stamps, 2001). Since bold animal tend to develop behavioral routines and are less attentive to their environment, homogenous habitat should favor this type of behavior contrary to heterogeneous habitat which should favor shy animal, able to adapt their behavior according to environmental change. Stressful



experience can also impact behavioral responses. For example, Ruiz-Gomez et al., 2008) found bold fish switching to shy fish after transportation.

Concerning biotic factors, mother-offspring interaction affect several axes of personality, such as anxiety, exploration and social behavior in rodents (Meaney, 2001; Kaiser et al., 2003) and primates (Coplan et al., 1996). Furthermore, in mammalian species, even short periods of maternal separation (5-24h) may lead to other changes, such as increased stress reactivity, which may persist throughout animal's life time (Fox and Millam, 2004). Likewise, sibling interactions in early life may affect personality as adult (Boon et al., 2007). In a cooperative breeding fish (*Neolamprologus pulcher*), the early post larval social environment affects the social behaviors of juveniles (Arnold and Taborsky, 2010). Predation pressure (Brown and Braithwaite, 2004; Brown, 2005; Brown et al., 2005; Archard and Braithwaite, 2011; Archard et al., 2012) and exposure to predation during early life have also an effect on behavior. In three spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*), fry from high-predation pressure populations raised with parental care showed a significant improvement in their antipredator responses compared with fry raised with no care (Tulley and Huntingford, 1987), similar benefits of early social interactions with adult were seen in the Trinidadian guppies (Chapman et al., 2008). Food availability is probably one major factor that could exert long lasting effects on personality traits, since risk taking, exploration and activity level, 3 of the 5 axes of personality, are related to resources acquisition (Anholt et al., 2000). Further, competition for scarce resources is a fundamental aspect of the behavioral ecology and population dynamics (Kristensen and Closs, 2008). Fluctuation in both quality and quantity of food supply experienced during early life can have important consequences for life history (Carere et al., 2005a). In a study of the same authors on passerine bird (*Parus major*), they manipulated food ration during early life and found that food rationing affected both exploration score and aggression, where rationed individuals increased their exploration and aggression, despite four generation of selection on these traits. Finally, the predictability of food supply during early life can have an effect on behavior. Chapman et al., (2010) found in the Trinidadian Guppy, *Peocilia reticulata*, that fish reared under unpredictability of food supply spent less time in a refuge zone than fish reared with predictable food supply. (Braithwaite and Salvanes, 2005), on juvenile cod *Gadus morhua*, showed that fish reared under unpredictability of food supply left a refuge sooner than fish with predictable food supply.

Finally, genetic selection and domestication also change the behaviors of individuals (Price, 1999; 2002; Vandeputte and Prunet, 2002; Bégout Anras and Lagardère, 2004; Bouissou and Boissy, 2005; Millot et al., 2010; Benhaïm et al., 2012b; Stryjek et al., 2012). Selection is mainly applied to phenotypic traits to improve production such as growth or flesh quality (Mignon-Grasteau and Faure, 2002; Terlouw, 2002). However, several studies have shown the possibility to amplify or reduce certain behavioral and/or physiological responses such as attack latency in mice (Veenema et al., 2005b), exploration speed in bird (Stöwe et al., 2010) or cortisol responses in fish (Pottinger and Carrick, 1999). Indeed,

Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* selected for high and low cortisol response (HR and LR respectively) (Pottinger and Carrick, 1999) appear to behave differently in stressful situations. Because of recent rearing, fish have become interesting models to study the effect of domestication and selection since only few fish species are fully domesticated (Teletchea and Fontaine, 2014). Further, certain behavioral responses are species specific (Ferrari et al. submitted – Chap. 2), whereas others are not, thus comparative studies on different species is needed to understand why some traits are common and if factor shaping these traits are the same.

In this work, we explored the effects of food predictability on boldness in young European seabass (90 days old). Fish used were from a second generation of two divergent strains selected for their tolerance to feed deprivation (FD+ and FD- , see Daulé et al., 2014). These strains are well described for their growth (Grima et al., 2010a; Grima et al., 2010b) but little is known about the effects of such selection on personality and boldness in particular. First, we characterized personality by measuring one proxy: the individual tolerance to hypoxia in groups (hypoxia test, Ferrari et al., submitted – Chap. 2); and we evaluated boldness using a Z-Maze with a shelter (after Chapman et al 2010). Fish were then submitted to two treatments during 60 days: predictability of food supply *versus* unpredictability. Thereafter, besides measuring individual growth, fish were tested again with the two same tests in order to evaluate the shaping effects of predictability of food supply during early life on a marine long-lived gregarious species.

2. Materials and methods

2.1. Fish and experimental conditions

Fish were hatched and reared at the experimental research station of Ifremer (Palavas-les-Flots, France) according to seabass rearing standard (Chatain, 1994). They came from a second generation of divergent selected strains based on food deprivation resistance (FD- and FD+ strains, Ifremer, see Daulé et al., 2014). A sample of 600 fish (300 FD+ and 300 FD-) was transported at 86 days post hatching (dph) on 06/04/2012 to the Fish Ecophysiology Platform of La Rochelle (PEP, <http://wwz.ifremer.fr/pep>, France). After 8 days of acclimatization, a sub-sample of 313 fish was tagged using RFID microtags (Ferrari et al., 2014b) at 0.86 ± 0.28 g (mean \pm standard deviation (sd)) at 93 dph (06/12/2012), then distributed in six 400 l tank located in a dedicated room with half of each strain per tank (FD+, FD; Table 1). The six 400 L tanks were supplied with sand filtered seawater in a recirculated system (flow rate of $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ in each tank, and 15% water renewal per day). Tanks were surrounded by an opaque black curtain in order to avoid any disturbance to the fish. Each tank was overhung by a white light (Philips, 80W). The light cycle was controlled (14 hours day/ 10 hours night) during all the experiment. Water temperature, oxygen saturation and salinity were monitored daily and maintained at optimal values 20.6 ± 0.3 °C,



oxygen saturation at 75.4 ± 8.9 % and salinity at 26.9 ± 0.9 . Ammonia, nitrites and nitrates values were checked weekly and were respectively lower than 0.05 ± 0.05 , 0.13 ± 0.06 and 0.97 ± 0.11 mg L⁻¹. From 95 dph to 135 dph (40 days), fish were hand fed between 3:00 and 5:00 PM with a commercial food (61% proteins and 33% lipids), according to the tables provided by the supplier (INICIOplus, BIOMAR®, France).

2.2. Evaluation of biological performances

Individual growth trajectories were analyzed from 93 dph to 191 dph. Biometrics measurements were performed at 93 dph, at 114 dph, at 150 dph and at 191 dph. We have defined two periods of interest without disturbances to the fish (*i.e.* no manipulation): period 1 (P1) between 93 and 114 dph (*i.e.* before the treatment) and period 2 (P2) between 150 and 191 dph (*i.e.* during the treatment). The variables chosen to evaluate biological performances were body mass (BM, g) and specific growth rate: $\text{SGR (\% of mass per day)} = 100 (\ln \text{BM}_f - \ln \text{BM}_i) / t$, with BM_f and BM_i which are the initial and final body mass (g) respectively and t is the number of total days within a period.

2.3. Feeding treatments

We divided the day into four 2-h time slots: from 09:00 to 11:00 AM, 11:00 AM to 01:00 PM, 01:00 to 03:00 PM, and 03:00 to 05:00 PM. Fish in the predictable treatment (predictable food supply, PFS) were always hand-fed in the 03:00–05:00 PM slot. Fish in the unpredictable treatment (unpredictable food supply, UFS) were designated daily feeding slots by generating a pseudorandom sequence of a number from 1 to 4 using R (with 1 representing the first slot, 2 the second slot, and so on) for each day over the feeding treatment period. To investigate the importance of early experience, we reared fish under their assigned feeding treatments from 135 dph to 195 dph (*i.e.* 60 days) with one triplicate of tanks per treatment. T1, T2 and T3 were subjected to PFS whereas T4, T5 and T6 were subjected to UPF treatment.

2.4. Behavioral trials

2.4.1. Hypoxia test

The hypoxia test consisted of reducing the oxygen levels in one side of a two chambers tank and measuring the escape behavior from the hypoxia to the normoxia side (adapted from [Laursen et al., 2011](#)). The test was performed twice (hereafter called session 1 and session 2) on all the individuals.

Session 1 was performed from 121 dph to 124 dph, and each tank was screened 7 days later for exploration. Session 2 was realised from 191 dph to 195 dph, just at the end of the feeding treatment, and each tank was screened 7 days later for exploration. The hypoxia tests were carried out using two identical circular tanks (70 l, height 48 cm, diameter 49.5

cm) attached to one another via a transparent acrylic pipe (diameter 11 cm, length 30 cm, height from bottom 23 cm, see figure 1 in [Castanheira et al. 2013b](#)). Each tank was considered as a separated environment individually equipped with oxygen and air supply that was switched off in hypoxia tank during the trials. Fish from one home tank (T1 to T6) were gathered in one chamber of the tank (becoming afterwards the hypoxia tank) and left for 30 min of acclimation prior to the experiment start. The hypoxia tank was supplied with a nitrogen source in order to induce hypoxic conditions during the experiment (bubbling N₂ from 90 % oxygen saturation to 9 - 12 % in 30 min). The second chamber of the tank with normoxic condition was referred as normoxia tank. A camera was placed above the apparatus in order to see when fish passed from one chamber to another. Oxygen level was manually recorded in the hypoxia tank every two minutes using WTW® oxymeter. When a fish passed into normoxic tank, it was netted, identified by reading its RFID tag (Nonatec® Arm reader) and oxygen level in the hypoxia tank was noted. The hypoxia test was finalized when 2/3 of the fish escaped from the hypoxia tank or when 10 % saturation of oxygen was reached (water temperature 20°C, salinity 26.9). Variable of interest was oxygen saturation (%) in the hypoxia tank when fish performed its first passage into normoxic tank. At the end of the hypoxia test, two categories of fish were defined: Fish escaping hypoxic conditions to go to normoxic tank were called Hypoxia Avoiders fish (HA) whereas fish staying in hypoxic tank were named Hypoxia Tolerant fish (HT).

2.4.2. Boldness and Exploration test

A Z-maze (70 x 45 x 15 cm) adapted from that described by Chapman et al. (2010) was used for the evaluation of boldness and exploration ([Chapman et al., 2010](#)). The Z-maze consisted of a refuge zone and four arms (Figure 1). Each arm was divided virtually into four quarters of equal size, referred to as quadrants. The maze thus consisted of 16 quadrants. Fish were individually introduced into the refuge zone (equivalent to 3 quadrants, covered with a black slab and ending in a sliding door). The start area thus consisted of these three covered quadrants and the adjacent one. The fish were left for five minutes in the refuge zone and the door was opened. The fish were then allowed 15 minutes to leave the shelter. If the individual did not go out of the shelter within this duration the experiment was stopped and a latency of 900 s was attributed. For the other fish, activity was recorded for five minutes following the first excursion of the fish out of the refuge zone (detection in the first quadrant after the refuge zone).

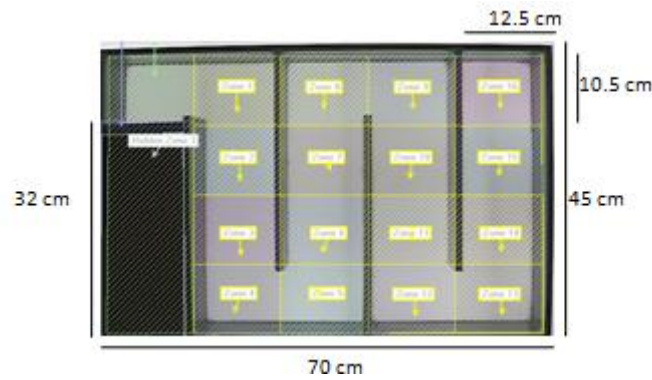


Figure 1 : Schema of the Z Maze used to characterize boldness and exploration

Videos were recorded at a rate of 25 frames per second with an analog ICD-48E camera (Ikegami) and a 2.7–13.5 mm lens (Fujinon), linked to a PC with an acquisition card and Ethovision XT software (Noldus, The Netherlands). EthoVision XT software was also used for track extraction and analysis. The variables measured were the time to first exit from the refuge zone (s) and the time spent in the refuge zone (s) during the trial. We also determined the number of quadrants into which the fish ventured within the maze (16 indicating that the fish reached the end of the maze), as an index of individual tendency to explore (Chapman et al., 2010). We converted time spent in the refuge zone and individual tendency to explore the maze into proportions which were arcsine square root transformed for statistical analysis.

The exploration tests were performed twice. Session 1 was done from 128 dph to 132 dph just before starting the feeding treatments and 7 days after the hypoxia test session 1 with 10 individuals per tank (*i.e.* 60 individuals). After the tests, all individuals were placed back in their respective tanks. Session 2 was performed toward the end of the feeding treatment from 198 dph to 204 dph, *i.e.* starting 3 days before stopping the feeding treatment. In total 79 individuals were tested (42 UPF and 37 PFS) of which 44 were tested at both sessions (16 UPF and 28 PFS).

2.5. Data analysis

Statistical analyses were carried out with Statistica 9.0 (Statsoft, Tulsa, OK, USA) software. All data were checked for normality and homoscedasticity. Body mass at the beginning of experiment were compared with two ways ANOVA using Strain as fixed factor and Tank as random factor. Significant ANOVA were then analyzed using post hoc multiple comparison test (Newman Keuls, NK). SGR for P1 were compared using two ways ANOVA using Strain as fixed factor and Tank as random factor and for P2 with Strain and Treatment as fixed factor and Tank as random factor nested in Treatment.

For the hypoxia tests, individual oxygen levels at first passage in normoxic tank at session 1 were compared using two ways ANOVA with Strain as fixed factor and Tank as random factor. For session 2, individual oxygen levels at first passage in normoxic tank were

compared using two ways ANOVA with Strain and Treatment (UFS, PFS) as fixed factors and Tank as random factor nested in Treatment. Oxygen levels at first passage in normoxic tank were also compared between the two sessions using Repeated- Measure ANOVA (RM-ANOVA) with Strain and Treatment (UFS, PFS) as fixed factors. Pearson correlation was carried out between individual oxygen levels at first passage at sessions 1 and 2 to assess consistency of hypoxia tolerance before and after the two feeding treatments.

In the exploration tests, fish that did not go out of the refuge zone during the exploration test duration were included in the analyses of the variable time to first exit from the refuge zone but were excluded from the analyses of proportion of time spent in the refuge zone and proportion of maze explored. For each variable, inter-individual variability was assessed using the coefficient of variation ($CV = \text{standard deviation}/\text{mean} \times 100, \%$). Inter-strains and inter-treatments differences were evaluated for time to first exit, proportion of time spent in the refuge zone and proportion of maze explored during session 1 by applying a factorial ANOVA with Strain as fixed factor and Tank as random factor; and for session 2 with Strain and Treatment as fixed factors and Tank as random factor, nested in treatment. All three variables were also compared between the two sessions for the 44 individuals tested both at sessions 1 and 2 using RM-ANOVA with Strain and Treatment (UFS, PFS) as fixed factors. Performances of these individuals were analyzed using a Pearson correlation to assess consistency of exploration behavior before and after the two feeding treatments.

Data are given as mean \pm SD unless otherwise stated. All statistical tests were carried out at the 5% significance level. The results are reported in the figures as means \pm standard error (SE).

3. Results

3.1. Growth performances

Only one FD+ fish belonging to PFS treatment died over the experiment duration at 192 dph during the hypoxia test session 2.

No body mass differences were observed between Strain and Tank at the beginning of the experiment (93 dph, Table 1), ($F_{(1,5)}=2.69, p=0.16$; $F_{(5,5)}=0.91, p=0.54$ respectively), and no interactions between factors were observed ($F_{(5,301)}=0.76, p=0.58$). However, Strain and Tank had significant effects on SGR during P1 ($F_{(1,5)}=20.13, p<0.01$; $F_{(5,5)}=30.61, p<0.001$ respectively) but no interaction between factors were observed ($F_{(5,301)}=0.45, p=0.84$). Post hoc test showed that FD+ strain had higher SGR than FD- strain during P1 (mean SGR_P1 was $3.95 \pm 0.78 \%$ for FD- strain and $4.19 \pm 0.69 \%$ for FD+) and that tanks 1 and 2 had significantly lower SGR (mean SGR_P1 was $3.69 \pm 0.65 \%$ for T1-T2) than tanks 3 to 6 (mean SGR_P1 was $4.29 \pm 0.68 \%$ for T3-T6).



Table 1 : Fish body mass (g) according to Treatment, Tank and Strain. Values are reported as mean \pm sd, dph are days post hatching

		Predictable Food Supply						Unpredictable Food Supply					
Treatment													
Tank		1		2		3		4		5		6	
Fish age (dph)	Strain	FD+	FD-	FD+	FD-	FD+	FD-	FD+	FD-	FD+	FD-	FD+	FD-
Before treatment	93 dph	0.93 \pm 0.19	1.00 \pm 0.31	0.88 \pm 0.30	0.99 \pm 0.24	0.87 \pm 0.19	0.91 \pm 0.31	0.90 \pm 0.24	1.00 \pm 0.35	1.01 \pm 0.28	0.96 \pm 0.31	0.90 \pm 0.25	0.90 \pm 0.24
	114 dph	2.08 \pm 0.56	2.05 \pm 0.55	2.01 \pm 0.71	2.10 \pm 0.51	2.29 \pm 0.59	2.26 \pm 0.62	2.15 \pm 0.43	2.49 \pm 0.89	2.49 \pm 0.58	2.25 \pm 0.78	2.21 \pm 0.67	2.11 \pm 0.60
During treatment	150 dph	3.96 \pm 1.29	3.67 \pm 1.41	3.63 \pm 1.53	4.00 \pm 1.35	3.53 \pm 1.35	3.95 \pm 1.20	3.71 \pm 0.95	4.19 \pm 1.80	4.25 \pm 1.42	3.76 \pm 1.57	3.57 \pm 1.38	3.48 \pm 1.26
After treatment	191 dph	8.10 \pm 2.74	7.59 \pm 3.12	6.87 \pm 2.28	7.42 \pm 2.17	6.39 \pm 2.58	7.18 \pm 1.97	6.34 \pm 1.48	7.18 \pm 2.88	8.24 \pm 2.54	7.46 \pm 3.46	6.77 \pm 2.58	6.59 \pm 2.18
Total		30	25	32	28	27	26	23	26	26	24	26	20

No differences were observed between Strain and Treatment on body mass at the end of P2 ($F_{(1,306)}=0.20$, $p=0.65$ and $F_{(1,4)}=0.10$, $p=0.77$ respectively). However Tank had an impact on body mass ($F_{(4,306)}=2.87$, $p=0.02$) but post hoc Newman Keuls did not shown any differences between tanks ($p>0.05$ for all tanks). Finally, Treatment and Tank had an effect on SGR during P2 ($F_{(1, 303)}=4.97$, $p=0.026$ and $F_{(4,303)}=8.73$, $p<0.01$ respectively) but no Strain effect was observed ($F_{(1, 303)}=0.01$, $p=0.90$). PFS Fish had higher SGR (1.60 ± 0.004 %) than UFS fish (1.50 ± 0.004 %) (Figure 2).

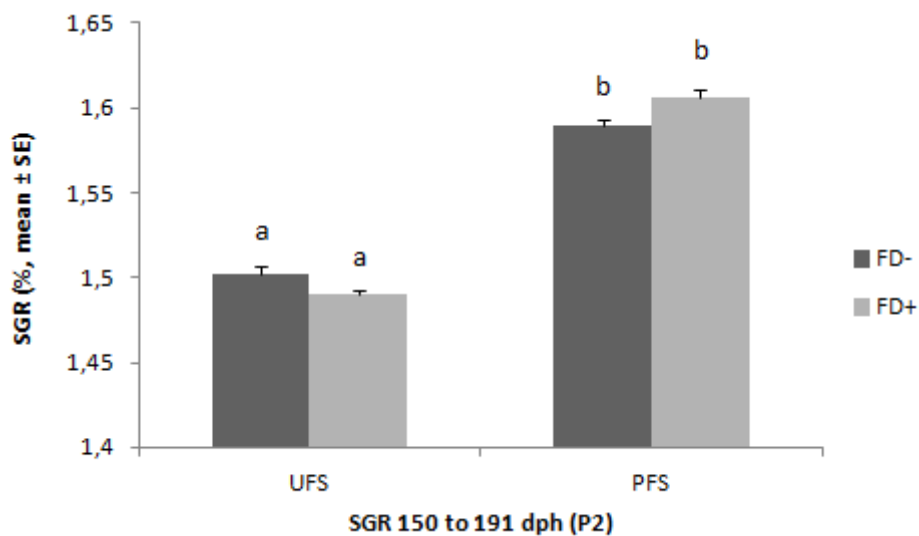


Figure 2 : Specific growth rate (SGR, % of body mass gain per day) of fish during the last 41 days of the feeding treatment (P2). Fish reared under predictable food supply have higher SGR than fish reared under unpredictable food supply, but no strain effect was observed (FD+, FD-: two divergent strains for feed deprivation tolerance). Different letters show significant differences at $p<0.001$.

3.2. Hypoxia test

Session 1

Overall, 102 fish over 312 (32.7%) escaped hypoxic conditions at session 1, these fish were called HA. Among them, there were 43.1% of FD+ strain and 56.9% of FD- strain. Oxygen saturation at first passage in normoxic tank was 12.7 ± 1.9 % for FD+ strain and 13.1 ± 2.5 % for FD- strain (Figure 2). No significant Strain effect was observed ($F_{(1,305)}=3.49$, $p=0.06$) but a Tank effect was observed ($F_{(5,305)}=3.45$, $p<0.01$, data not shown). Newman Keuls post hoc test showed that individuals from tank 1 had higher mean oxygen level at first passage in normoxic tank (13.8 ± 3.9 %) than tanks 3 and 5 (12.4 ± 1.1 %, $p=0.04$ and $p<0.01$ respectively). Tanks 2, 3, 4, 5 and 6 were not statistically different (12.7 ± 1.5 %) and Figure 3 is thus presented without data from Tank 1.



Session 2

Overall, 99 fish over 312 (31.7%) escaped hypoxic conditions at session 2. Among them there were 46.5 % of FD+ strain and 53.5 % of FD- strain. Oxygen saturation at first passage in normoxic tank was 16.9 ± 13.7 % for FD+ strain and 16.9 ± 11.4 % for FD- strain. Oxygen saturation was 13.7 ± 5.9 % for UFS and 19.6 ± 15.8 % for PFS fish (Figure 2). Neither Strain nor Treatment effects were observed ($F_{(1,305)}=0.10$, $p=0.75$ and $F_{(1,4)}=2.64$, $p=0.20$). However, a Tank effect was observed ($F_{(4,305)}=6.73$, $p<0.001$) and post hoc test showed that tank 1 (PFS, 27.98 ± 21.20 %) was different from all the other tanks (14.5 ± 6.6 %). Without tank 1, mean oxygen level was 13.8 ± 5.9 % for UFS and 15.6 ± 9.4 % for PFS fish which is thus presented in Figure 3.

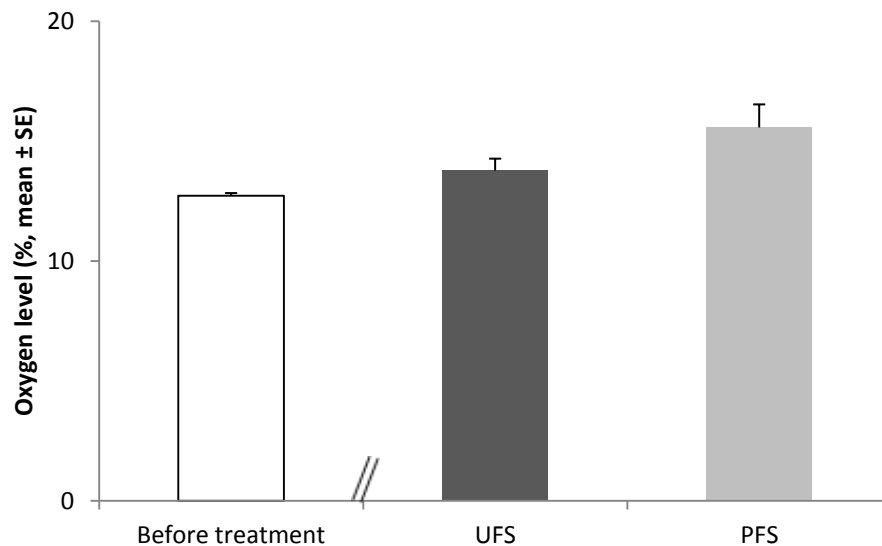


Figure 3 : Mean oxygen level (%) at first passage in normoxic tank during the hypoxia test before and after 60 days of two feeding treatments (UFS for unpredictable food supply and PFS for predictable food supply; data from Tank 1 was not included in this graph since it was different from all other tanks both Before and during the two feeding treatments).

Session 1 versus Session 2

RM-ANOVA showed a Strain effect on individual oxygen level at first passage in normoxic tank ($F_{(2,186)}=3.126$, $p=0.046$) but no treatment effect was observed ($F_{(2,186)}=2.93$, $p=0.06$). At session 2, fish from FD+ strain increased their oxygen level at first passage in normoxic tank contrary to fish from FD- strain which remained stable. However, no interactions were observed between Session and Treatment on individual oxygen level ($F_{(2,186)}=0.70$, $p=0.50$). Overall, taking all fish together, individual oxygen saturation at first passage in normoxic tank were correlated between sessions 1 and 2 (at 70 days interval; $r_p=0.22$, $p<0.001$). For PFS fish, individual oxygen saturation values at first passage in

normoxic tank were correlated between sessions 1 and 2 ($r_p = 0.20$; $p < 0.01$) but no significant correlation was observed for UFS fish ($r_p = 0.107$; $p = 0.20$).

3.3. Exploration

Session 1

Three fish did not go out of the refuge zone (out of 60). Time to first exit from the refuge zone was 110.4 ± 192.9 s; range 0-900 (Figure 4). The coefficient of variation (CV) was 174.6 %. Neither Strain, Tank, nor interaction between factors were observed ($F_{(1,12.7)} = 1.14$, $p = 0.31$; $F_{(5,5)} = 1.19$, $p = 0.43$ and $F_{(5,53)} = 0.58$, $p = 0.71$ respectively). Proportion of time spent in the refuge zone was 32.1 ± 32.7 %; range 0.1- 95.5 % (Figure 4A). The CV was 101.7 %. Neither Strain, Tank, nor interactions between factors were observed on proportion of time spent in the refuge zone ($F_{(1,4.5)} = 0.19$, $p = 0.69$; $F_{(5,5.5)} = 1.15$, $p = 0.44$ and $F_{(4,47)} = 0.76$, $p = 0.56$ respectively). Mean proportion of the maze explored was 76.8 ± 30.5 % (Figure 4B); range 12.5-100 %; CV= 39.7 %; 34 fish out of 60 reached the farthest quadrant (56.7 % of fish tested explored 100 % of the maze). Neither Strain, Tank, nor interaction between factors were observed on proportion of maze explored ($F_{(1,4.4)} = 0.02$, $p = 0.90$; $F_{(5,3)} = 0.41$, $p = 0.82$ and $F_{(5,47)} = 0.87$, $p = 0.49$, respectively).

Session 2

Among 79 individuals tested, 21 individuals did not go out of the refuge zone. Among them, 9 fish belonged to UFS treatment (42.9%) and 12 belonged to PFS treatment (57.1%). No significant differences between these proportions were observed ($\chi^2 = 1.22$, $p > 0.05$).

Mean time to first exit from the shelter was 296.9 ± 363.3 s ; range 0-900 s; CV = 122.4 % for UFS fish against 519.5 ± 354.3 s ; range 15.8-900 s; CV = 68.2 % for PFS fish. UFS fish emerged significantly quicker from the shelter than PFS fish ($F_{(1,5.7)} = 21.73$, $p < 0.01$, Figure 4). No Strain or Tank effects were observed ($F_{(1,72)} = 1.19$, $p = 0.28$ and $F_{(4,72)} = 0.28$, $p = 0.89$ respectively).

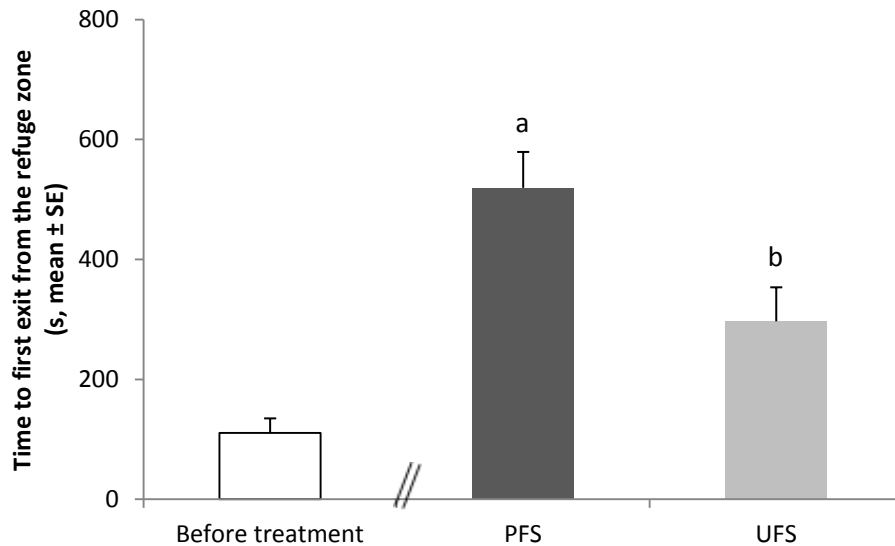


Figure 4 : Time to first exit from the refuge zone before and after 60 days of two feeding treatments (UFS for unpredictable food supply and PFS for predictable food supply). Different letters indicate significant differences between the two feeding treatments (PFS, UFS, $p < 0.01$).

Mean proportion of time spent in the refuge zone was 41.47 ± 39.65 %; range 0.4-100 %; CV = 95.61 % for PFS and 41.24 ± 40.17 %; range 0.1-100 %; CV = 97.41 % for UFS fish. No Strain, Treatment or Tank effects were observed on proportion of time spent in the refuge zone ($F_{(1,48)}=0.54$, $p=0.47$; $F_{(1,5,4)}=0.64$, $p=0.46$ and $F_{(4,48)}=0.62$, $p=0.65$ respectively, Figure 5A). In total, 29.0 % of UFS fish reached the farthest quadrant against 52.4 % for PFS fish ($\chi^2=2.88$, $p>0.05$), taking fish from both treatments, 38.5 % of fish reached the farthest quadrant. Fish reared under PFS treatment had a mean proportion of maze explored of 68.75 ± 35.85 % (range 6.25-100 %) and a CV of 52.15 %; fish reared under UFS treatment had a mean proportion of maze explored of 61.91 ± 31.76 %; range 6.25-100 %; and a CV of 51.30 % (Figure 5B). Neither strain nor treatment effect were observed on proportion of maze explored ($F_{(1,48)}=0.14$, $p=0.71$; $F_{(1,4,2)}=0.02$, $p=0.90$ respectively, Figure 3B). However, a tank effect was observed ($F_{(4,48)}=4.27$, $p < 0.01$) and post hoc Newman Keuls showed that fish from tank 3 (PFS) explored significant less the maze than fish from tanks 1 and 2 (PFS). All other tanks were similar.

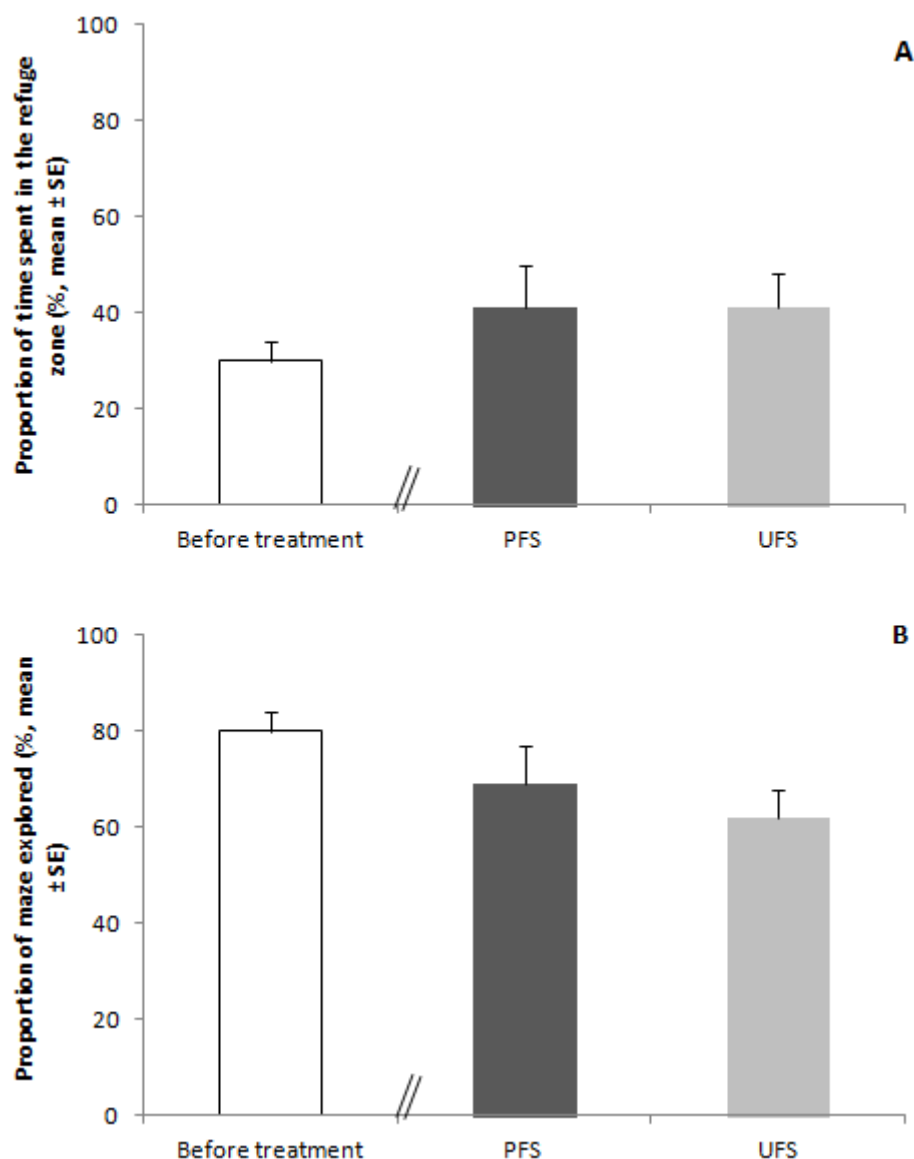


Figure 5 : Exploration tests results. **A** - Mean proportion of time spent in the refuge and **B** - Mean proportion of maze explored before and after 60 days of two feeding treatments (UFS for unpredictable food supply and PFS for predictable food supply). No differences were observed between PFS and UFS treatment on these variables.

Session 1 versus Session 2

For all the fish tested, time to first exit from the refuge zone increased at least twice between sessions 1 and 2 (session 1: 110.4 ± 192.9 s; session 2, UFS: 296.9 ± 363.3 s; PFS: 519.5 ± 354.3). Significantly more fish reached the farthest quadrant at session 1 (56.7 %) than at session 2 (38.5 %), ($\chi^2=14.1$, $p<0.05$).

For fish tested at both sessions, time to first exit was analyzed using RM ANOVA and a Treatment effect was observed ($F_{(2,45)}=7.66$, $p=0.001$). Fish from PFS treatment increased their latency to exit from the refuge zone whereas UFS fish remained stable. For proportion of time spent in the shelter RM-ANOVA showed a Treatment effect ($F_{(2,39)}=4.03$, $p=0.03$). Fish



reared under PFS treatment increased their proportion of time spent in the refuge zone at session 2 whereas fish reared under UFS treatment remained stable. Same analyze was carried out for the proportion of maze explored and neither Strain nor Treatment effect were observed ($F_{(2,39)}=0.05$, $p=0.95$ and $F_{(2,39)}=1.88$, $p=0.17$ respectively). Concerning individual consistency, no significant correlation was observed on time to first exit from the refuge zone ($N=44$; $r_p=0.02$; $p=0.89$), and for individual proportions of time spent in the refuge zone between sessions 1 and 2 ($N=44$, $r=0.21$, $p=0.16$). Individual proportions of maze explored were also not correlated between sessions 1 and 2 ($N=44$; $r_p=-0.14$; $p=0.35$).

4. Discussion

Our results showed that environmental conditions during early life influence fish behavior. In our experiment we reared juvenile seabass from two divergent strains selected for feed deprivation tolerance (95 days old) under standard conditions during 40 days and then we submitted them to two feeding conditions starting at 135 dph and during 60 days. We observed that seabass reared under unpredictable food supply (UFS) during early life showed lower growth and bolder behavior than fish reared under predictable food supply (PFS): they took less time to exit a refuge zone. We added a physiological dimension by screening fish according to their hypoxia tolerance. We observed that behavioral responses during hypoxia tests were consistent between before and after treatment. This was also the case for exploration tendency, contrary to boldness (i.e. time to exit a refuge zone). This suggests that growth rate and boldness are rapidly impacted by early environmental conditions (predictability of food supply herein) whereas physiological needs and exploration tendency evolved in a similar manner between treatments.

We observed that during the last period of the two feeding treatments, fish reared under predictable food supply had higher specific growth rate than fish reared under unpredictable food supply. This is not surprising since different studies have shown that fish are able to improve their digestive and metabolic processes when meals are delivered at the same time every day (Davidson and Stephan, 1999; Stephan, 2002; Montoya et al., 2010) by secreting digestive enzymes. This result shows evidence that feeding time should be considered for studies assessing growth and links between growth and others factors, such as impact of pollutants which requires feeding numerous batches of fish, but also particularly for studies assessing fish behavior. Concerning impact of selection on growth and behavior, we observed body mass differences between FD+ and FD- (Daulé et al., 2014) for two tanks at the beginning of the experiment only, leading to think that this difference was probably due to sample repartition artifact, since these differences were rapidly smoothen during the course of the experiment. These strains were selected for feed deprivation tolerance and no behavioral differences were observed during the hypoxia tolerance or boldness and exploration tests. These results suggest that such behavioral traits and FD tolerance may not be linked; or at least were not enough divergent at the time of this

study. It also shows that both strains were able to cope with the two feeding treatments in a similar manner. Indeed, fish used in this study came from a second generation of selection and likely still had high genetic variability as seabass has in general. In addition, our conditions were not feed deprivation *per se*, but rather food predictability so it is not surprising that no differences between strains were observed in growth gain at the end of experiment.

Concerning hypoxia test, the fact that behavioral responses (*i.e.* hypoxia tolerance) was not impacted by treatment seems to be related to the individual needs in oxygen, linked to individual metabolism. In seabass, as shown by (Killen et al., 2011a; Killen et al., 2011b), risk taking behavior is positively correlated to Resting Metabolic Rate (RMR) during hypoxia. Further, according to (Ferrari et al., submitted - Chap. 2), hypoxia test permits to screen seabass according to their coping style, with fish escaping hypoxic conditions (hypoxia avoider (HA)) being more active and bolder than hypoxia tolerant fish (HT). The hypoxia test requires two different abilities. First, taking risks (*i.e.* to be bold) in order to go in the risky zone with better oxygen condition, but also to detect hypoxic conditions. The present results suggest that physiological needs are less flexible than exploratory responses or at least dissociable from boldness trait and that oxygen conditions (*i.e.* hypoxia) direct the risk taking responses. An example of flexible dissociation of behavioral and physiological component of coping style is reported in (Ruiz-Gomez et al., 2008), where rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* switched from bold to shy behavior after an acute stress, although these line were selected for divergent behavioral and physiological responses and so had clearly different physiological responses (Pottinger and Carrick, 1999). In addition, some studies have demonstrated that consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior as reviewed in Biro and Stamps, (2010). Finally, as demonstrated by Ferrari et al. (submitted - Chap. 2), seabass are particularly stressed in isolated situation as they show gregarious behavior at juvenile stage. Group based tests are thus much more efficient than individual based test and consistency during hypoxia test could also be attributed to the less stressful character of the test, leading to more consistent results. Concerning inter-strain differences, they only appeared during the second session, when fish were older, and FD+ fish had a higher oxygen level at first passage in normoxic tank contrary to FD- fish which remained stable (no higher needs). RMR of these strains are however similar as shown by Pottinger and Carrick, (1999) but they differ in their relative use of tissue proteins as metabolic fuels when fasting, which was significantly lower in fasting tolerant phenotypes (FD-). This could explain the increase in oxygen needs in FD+ fish observed with at an older age.

Our results concerning boldness on European seabass are in accordance with those of (Braithwaite and Salvanes, 2005) on North Sea cod (another long lived marine species): fish reared with variation in food availability took less time to start exploring a new area (time to first exit the refuge zone before starting exploration of the maze in our case). However, we did not observe any differences in exploration ability between unpredictable and predictable



food supply treatments contrary to the study of Chapman et al., 2010 on the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*. This is probably due to seabass behavior since juveniles are shoaling in dense groups moving along the coast and settle progressively as they grow. Before treatment, when seabass were 128 days old, 56.7 % of fish explored 100 % of the maze against only 38.5 % when they were 198 days old. This shows a shift in behavior due to age as demonstrated in Ferrari et al., (submitted - Chap. 2) also for another family of test: the feeding recovery in isolation. Here we showed that 129 dph fish fed again whereas older fish (283 dph or 548 dph) did not. Another example of shift in behavioral response could be observed in the present study: mean time to first exit from the refuge zone doubled between sessions 1 and 2. This seems to show that juvenile seabass were bolder than older ones. The reason why we did not found differences in time spent in the refuge zone is not clear, but probably due to the too short time allowed for exploration.

When analyzing results from both tests together, it appears that boldness was impacted by the feeding treatments in the exploration test, but also to some extent in the hypoxia test since rank order consistency was not observed for UFS fish.

As reported in (Abrahams and Dill, 1989), when searching for new feeding areas, bold behavior may be advantageous, but as new habitats may be more risky, exploring should be avoided if an animal can acquire equivalent resources from known or less risky habitats. It is now clear that individual are able to make behavioral tradeoffs between food intake and risk taking in a state dependant fashion (Damsgard and Dill, 1998). As reported by Chapman et al., 2010, when food is available predictably, it may not pay to take further risks such as exploring novel environment to get food. Conversely, when food is unpredictable, it may be more beneficial to take risks in order to find foraging opportunities. An hungry animal is more willing to take risks because an increase in the benefit of risk taking behavior to get food results in an increase in the willingness to pay the potential cost (risk of injury or death) (Damsgard and Dill, 1998). However, as demonstrated by comparing sessions one and two, i.e. including sessions effects, it was not fish reared under unpredictable food supply that became bolder, but rather fish with predictable food supply that became shyer. Such behavioral flexibility permits fish to adapt to their environmental conditions faster than with evolutionary processes. It would be interesting to assess if such flexibility (i.e. becoming bolder or shyer) is reversible and if the valence of environmental pressure impact this reversibility.

In conclusion, we have shown the importance of the early experience as a driving force shaping behavior (herein boldness). In addition, we again showed evidence that feeding time should be taken into account for studies assessing essential physiological functions such as growth and behavior. Fish experiencing a predictable food supply had a higher growth rate and became shyer than fish reared under unpredictable food supply. Although personality traits are partially heritable, this study highlights the non negligible importance of environmental conditions and life history component of behavior.

References

- Abrahams, M.V., Dill, L.M., 1989. A Determination of the Energetic Equivalence of the Risk of Predation. *Ecology* 70, 999-1007.
- Anholt, B.R., Werner, E., Skelly, D.K., 2000. Effect of food and predators on the activity of four larval ranid frogs. *Ecology* 81, 3509-3521.
- Archard, G.A., Braithwaite, V.A., 2011. Increased exposure to predators increases both exploration and activity level in *Brachyrhaphis episcopi*. *Journal of Fish Biology* 78, 593-601.
- Archard, G.A., Earley, R.L., Hanninen, A.F., Braithwaite, V.A., 2012. Correlated behavior and stress physiology in fish exposed to different levels of predation pressure. *Functional Ecology* 26, 637-645.
- Arends RJ, Mancera JM, Munoz JL, Wendelaar Bonga SE, G, F., 1999. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. . *J. Endocrinol.*, 163, 149-157.
- Arnold, C., Taborsky, B., 2010. Social experience in early ontogeny has lasting effects on social skills in cooperatively breeding cichlids. *Animal Behavior* 79, 621-630.
- Bégout Anras, M.L., Lagardère, J.P., 2004. Domestication et comportement chez les poissons téléostéens. *INRA Production Animale* 17, 211-215.
- Bell, Alison, M., Hankison, Shala, J., Laskowski, Kate, L., 2009. The repeatability of behavior : a meta-analysis. Elsevier, Amsterdam, PAYS-BAS.
- Bell, A.M., 2007. Future directions in behavioral syndromes research. *Proceedings of The Royal Society* 274, 755-761.
- Benhaïm, D., Péan, S., Lucas, G., Blanc, N., Chatain, B., Bégout, M.-L., 2012. Early life behavioral differences in wild caught and domesticated seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Applied Animal Behavior Science* 141, 79-90.
- Biro, P.A., Beckmann, C., Stamps, J.A., 2010. Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277, 71-77.
- Biro, P.A., Stamps, J.A., 2010. Do consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior? *Trends in Ecology & Evolution* 25, 653-659.
- Bolhuis, J.E., Schouten, W.G.P., Leeuw, J.A.d., Schrama, J.W., Wiegant, V.M., 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioral flexibility in pigs. *Behavioral Brain Research* 152, 351-360.
- Boon, A.K., Réale, D., Boutin, S., 2007. The interaction between personality, offspring fitness and food abundance in North American red squirrels. *Ecology Letters* 10, 1094-1104.
- Bouissou, M.F., Boissy, A., 2005. Le comportement social des bovins et ses conséquences en élevage. *INRA Production Animale* 18, 87-99.



- Braithwaite, V.A., Salvanes, A.G.V., 2005a. Environmental variability in the early rearing environment generates behaviorally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272, 1107-1113.
- Braithwaite, V.A., Salvanes, A.G.V., 2005b. Environmental variability in the early rearing environment generates behaviorally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 272, 1107-1113.
- Brelín, D., Petersson, E., Dannewitz, J., Dahl, J., Winberg, S., 2008. Frequency distribution of coping strategies in four populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Hormones and Behavior* 53, 546-556.
- Brelín, D., Petersson, E., Winberg, S., 2005. Divergent Stress Coping Styles in Juvenile Brown Trout (*Salmo trutta*). *Annals of the New York Academy of Sciences* 1040, 239-245.
- Brown, C., Braithwaite, V.A., 2004. Size matters: a test of boldness in eight populations of the poeciliid *Brachyraphis episcopi*. *Animal Behavior* 68, 1325-1329.
- Brown, C., Burgess, F., Braithwaite, V., 2007. Heritable and experiential effects on boldness in a tropical poeciliid. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62, 237-243.
- Brown, C., Jones, F., Braithwaite, V., 2005. In situ examination of boldness–shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyraphis episcopi*. *Animal Behavior* 70, 1003-1009.
- Brown, C., Jones, F., & Braithwaite, V., 2005. In situ examination of boldness-shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyraphis episcopi*. *Animal Behavior* 70, 1003-1009.
- Budaev, S., Brown, C., *Personality Traits and Behavior, Fish Cognition and Behavior*, Wiley-Blackwell, pp. 135-165.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., Mochek, A.D., 1999a. Consistency of individual differences in behavior of the lion-headed cichlid, *Steatocranus casuarus*. *Behavioral Processes* 48, 49-55.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., Mochek, A.D., 1999b. Individual differences in parental care and behavior profile in the convict cichlid: a correlation study. *Animal Behavior* 58, 195-202.
- Carere, C., Drent, P.J., Koolhaas, J.M., Groothuis, T.G.G., 2005. Epigenetic effects on personality traits: early food provisioning and sibling competition. 142, 1329-1355.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceicao, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013a. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013b. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Chapman, B.B., Morrell, L.J., Benton, T.G., Krause, J., 2008. Early interactions with adults mediate the development of predator defenses in guppies. *Behavioral Ecology* 19, 87-93.
- Chapman, B.B., Morrell, L.J., Krause, J., 2010. Unpredictability in food supply during early life influences boldness in fish. *Behavioral Ecology* 21, 501-506.
- Chatain, B., 1994. Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*.

- Christensen, K., Brunelli, J., Wheeler, P., Thorgaard, G., 2014. Antipredator Behavior QTL: Differences in Rainbow Trout Clonal Lines Derived from Wild and Hatchery Populations. *Behavior Genetics*, 1-12.
- Coleman, K., Wilson, D.S., 1998. Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behavior* 56, 927-936.
- Coplan, J.D., Andrews, M.W., Rosenblum, L.A., Owens, M.J., Friedman, S., Gorman, J.M., Nemeroff, C.B., 1996. Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in adult nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93, 1619-1623.
- Coppens, C.M., de Boer, S.F., Koolhaas, J.M., 2010. Coping styles and behavioral flexibility: towards underlying mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 4021-4028.
- Damsgard, B., Dill, L.M., 1998. Risk-taking behavior in weight-compensating coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Behavioral Ecology* 9, 26-32.
- Daulé, S., Vandeputte, M., Vergnet, A., Guinand, B., Grima, L., Chatain, B., 2014. Effect of selection for fasting tolerance on feed intake, growth and feed efficiency in the European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 420–421, Supplement 1, S42-S49.
- Davidson, A.J., Stephan, F.K., 1999. Plasma Glucagon, Glucose, Insulin, and Motilin in Rats Anticipating Daily Meals. *Physiology & Behavior* 66, 309-315.
- Dill, L.M., 1983. Adaptive Flexibility in the Foraging Behavior of Fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40, 398-408.
- Dingemanse, N.J., Both, C., Drent, P.J., van Oers, K., van Noordwijk, A.J., 2002. Repeatability and heritability of exploratory behavior in great tits from the wild. *Animal Behavior* 64, 929-938.
- Eriksson, C.A., Booth, D.J., Biro, P.A., 2010. 'Personality' in two species of temperate damselfish. *Marine Ecology Progress Series* 420, 273-276.
- Ferrari, S., Chatain, B., Cousin, X., Leguay, D., Vergnet, A., Vidal, M.-O., Vandeputte, M., Bégout, M.-L., 2014. Early individual electronic identification of seabass using RFID microtags: A first example of early phenotyping of sex-related growth. *Aquaculture* 426–427, 165-171.
- Fevolden, S.-E., Roed, K., Fjalestad, K., 2002. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture* 205, 61 - 75.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Gjerde, B., 1993. Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* 118, 205-216.
- Fox, R.A., Millam, J.R., 2004. The effect of early environment on neophobia in orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*). *Applied Animal Behavior Science* 89, 117-129.
- Fraser, D., Gilliam, J., JDaley, M., NLe, A., Skalski, G., 2001. Explaining Leptokurtic Movement Distributions: Intrapopulation Variation in Boldness and Exploration. *The American Naturalist* 158, 124-135.



- Frost, A.J., Thomson, J.S., Smith, C., Burton, H.C., Davis, B., Watts, P.C., Sneddon, L.U., 2013. Environmental change alters personality in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Animal Behavior* 85, 1199-1207.
- Frost, A.J., Winrow-Giffen, A., Ashley, P.J., Sneddon, L.U., 2007. Plasticity in animal personality traits: does prior experience alter the degree of boldness? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274, 333-339.
- Godin, J.-G.J., Dugatkin, L.A., 1996. Female mating preferences for bold males in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 10262-10267.
- Grima, L., Chatain, B., Ruelle, F., Vergnet, A., Launay, A., Mambrini, M., Vandeputte, M., 2010a. In search for indirect criteria to improve feed utilization efficiency in seabass (*Dicentrarchus labrax*): Part II: Heritability of weight loss during feed deprivation and weight gain during re-feeding periods. *Aquaculture* 302, 169-174.
- Grima, L., Vandeputte, M., Ruelle, F., Vergnet, A., Mambrini, M., Chatain, B., 2010b. In search for indirect criteria to improve residual feed intake in seabass (*Dicentrarchus labrax*): Part I: Phenotypic relationship between residual feed intake and body weight variations during feed deprivation and re-feeding periods. *Aquaculture* 300, 50-58.
- Jutfelt, F., Bresolin de Souza, K., Vuylsteke, A., Sturve, J., 2013. Behavioral Disturbances in a Temperate Fish Exposed to Sustained High-CO₂ Levels. *PLoS ONE* 8, e65825.
- Kaiser, S., Kruijver, F.P.M., Swaab, D.F., Sachser, N., 2003. Early social stress in female guinea pigs induces a masculinization of adult behavior and corresponding changes in brain and neuroendocrine function. *Behavioral Brain Research* 144, 199-210.
- Killen, S.S., Marras, S., McKenzie, D.J., 2011. Fuel, fasting, fear: routine metabolic rate and food deprivation exert synergistic effects on risk-taking in individual juvenile European seabass. *Journal of Animal Ecology* 80, 1024-1033.
- Killen, S.S., Marras, S., Ryan, M.R., Domenici, P., McKenzie, D.J., A relationship between metabolic rate and risk-taking behavior is revealed during hypoxia in juvenile European seabass. *Functional Ecology* 26, 134-143.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Korte, S.M., Koolhaas, J.M., Wingfield, J.C., McEwen, B.S., 2005. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 3-38.
- Kristensen, E.A., Closs, G.P., 2008. Variation in growth and aggression of juvenile brown trout (*Salmo trutta*) from upstream and downstream reaches of the same river. *Ecology of Freshwater Fish* 17, 130-135.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.

- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D.M., Kadri, S., Huntingford, F.A., 2009. Screening for Coping Style Increases the Power of Gene Expression Studies. *PLoS ONE* 4, e5314.
- Mangel, M., Stamps, J., 2001. Trade-offs between growth and mortality and the maintenance of individual variation in growth. *Evolutionary Ecology Research* 3, 583-593.
- McKenzie, D.J., Vergnet, A., Chatain, B., Vandeputte, M., Desmarais, E., Steffensen, J.F., Guinand, B., 2014. Physiological mechanisms underlying individual variation in tolerance of food deprivation in juvenile European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *The Journal of Experimental Biology* 217, 3283-3292.
- Meaney, M.J., 2001. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience* 24, 1161-1192.
- Mignon-Grasteau, S., Faure, J.M., 2002. Génétique et adaptation: le point des connaissances chez les volailles. *INRA Production Animale* 15, 357-364.
- Millot, S., Bégout, M.L., Chatain, B., 2009. Risk-taking behavior variation over time in seabass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *Journal of Fish Biology* 75, 1733-1749.
- Millot, S., Péan, S., Labbé, L., Kerneis, T., Quillet, E., Dupont-Nivet, M., Bégout, M.-L., 2014. Assessment of Genetic Variability of Fish Personality Traits using Rainbow Trout Isogenic Lines. *Behavior Genetics*, 1-11.
- Millot, S., Péan, S., Leguay, D., Vergnet, A., Chatain, B., Bégout, M.L., 2010. Evaluation of behavioral changes induced by a first step of domestication or selection for growth in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach under repeated acute stress. *Aquaculture* 306, 211-217.
- Montoya, A., López-Olmeda, J.F., Yúfera, M., Sánchez-Muros, M.J., Sánchez-Vázquez, F.J., 2010. Feeding time synchronises daily rhythms of behavior and digestive physiology in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 306, 315-321.
- Munday, P., Pratchett, M., Dixon, D., Donelson, J., Endo, G.K., Reynolds, A., Knuckey, R., 2013. Elevated CO₂ affects the behavior of an ecologically and economically important coral reef fish. *Mar. Biol.* 160, 2137-2144.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Nilsson, G.E., 2006. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? *Physiology & Behavior* 87, 506-512.
- Pawson, M.G., 1994. *Seabass: Biology*. Springer. 12.
- Pawson, M.G., Kelley, D.F., Pickett, G.D., 1987. The distribution and migrations of bass *Dicentrarchus labrax* L. inwaters around England andWales as shownby tagging. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 67, 183-217.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999. Modification of plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *General and Comparative Endocrinology* 116, 122-132.
- Price, E.O., 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behavior Science* 65, 245-271.
- Price, E.O., 2002. *Animal Domestication and Behavior*. CABI Publishing, New York, 297 pp.



- Réale, D., Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Wright, J., 2010. Evolutionary and ecological approaches to the study of personality. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 3937-3946.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291-318.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Huntingford, F.A., Øverli, Ø., Thörnqvist, P.-O., Höglund, E., 2011. Response to environmental change in rainbow trout selected for divergent stress coping styles. *Physiology & behavior* 102, 317-322.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Kittilsen, S., Höglund, E., Huntingford, F.A., Sørensen, C., Pottinger, T.G., Bakken, M., Winberg, S., Korzan, W.J., Øverli, Ø., 2008. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: When doves become hawks. *Hormones and Behavior* 54, 534-538.
- Sih, A., Bell, A., Chadwick Johnson, J., 2004. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 372-378.
- Stamps, J., Groothuis, T.G.G., 2010. The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. *Biological Reviews* 85, 301-325.
- Stephan, F.K., 2002. The "Other" Circadian System: Food as a Zeitgeber. *Journal of Biological Rhythms* 17, 284-292.
- Stöwe, M., Rosivall, B., Drent, P.J., Möstl, E., 2010. Selection for fast and slow exploration affects baseline and stress-induced corticosterone excretion in Great tit nestlings, *Parus major*. *Hormones and Behavior* 58, 864-871.
- Stryjek, R., Modlińska, K., Pisula, W., 2012. Species Specific Behavioral Patterns (Digging and Swimming) and Reaction to Novel Objects in Wild Type, Wistar, Sprague-Dawley and Brown Norway Rats. *PLoS ONE* 7, e40642.
- Teletchea, F., Fontaine, P., 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. *Fish and Fisheries* 15, 181-195.
- Terlouw, E.M.C., 2002. Stress des animaux et qualités de leurs viandes. Rôles du patrimoine génétique et de l'expérience antérieure. *INRA Production Animale* 15, 125-133.
- Toms, C.N., Echevarria, D.J., Jouandot, D.J., 2010. A methodological review of personality-related studies in fish: focus on the shy-bold axis of behavior. *International Journal of Comparative Psychology* 23, 1-25.
- Tulley, J.J., Huntingford, F.A., 1987. Paternal care and the development of adaptive variation in anti-predator responses in sticklebacks. *Animal Behavior* 35, 1570-1572.
- van Oers, K., Drent, P.J., de Goede, P., van Noordwijk, A.J., 2004. Realized heritability and repeatability of risk-taking behavior in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271, 65-73.
- Van Raaij, M.T.M., Vianen, G.J., Van den Thillart, G., 1996. Blood gas parameters and the responses of erythrocytes in carp exposed to deep hypoxia and subsequent recovery. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 7, 453-460.

- Vandeputte, M., Prunet, P., 2002. Génétique et adaptation chez les poissons : domestication, résistance au stress et adaptation aux conditions de milieu. INRA Productions Animales 15, 365-371.
- Vaz-Serrano, J., Ruiz-Gomez, M.L., Gjøen, H.M., Skov, P.V., Huntingford, F.A., Overli, O., Höglund, E., 2011. Consistent boldness behavior in early emerging fry of domesticated Atlantic salmon (*Salmo salar*): Decoupling of behavioral and physiological traits of the proactive stress coping style. *Physiol Behav* 103, 359-364.
- Veenema, A.H., Sijtsma, B., Koolhaas, J.M., Ronald de Kloet, E., 2005. The stress response to sensory contact in mice: genotype effect of the stimulus animal. *Psychoneuroendocrinology* 30, 550-557.
- Verbeek, M.E.M., Drent, P.J., Wiepkema, P.R., 1994. Consistent individual differences in early exploratory behavior of male great tits. *Animal Behavior* 48, 1113-1121.
- White, J.R., Meekan, M.G., McCormick, M.I., Ferrari, M.C.O., 2013. A Comparison of Measures of Boldness and Their Relationships to Survival in Young Fish. *PLoS ONE* 8, e68900.
- Wilson, D.S., Clark, A.B., Coleman, K., Dearstyne, T., 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 442-446.
- Wolf, M., Van Doorn, S., Leimar, O., Weissing, F.J., 2007. Life-history trade-offs favour the evolution of animal personalities. *Nature*, 581-585.
- Wright, D., Nakamichi, R., Krause, J., Butlin, R., 2006. QTL Analysis of Behavioral and Morphological Differentiation Between Wild and Laboratory Zebrafish (*Danio rerio*). *Behavior Genetics* 36, 271-284.

Chapitre 8.

Article VII: Caractérisation de l'héritabilité de traits de personnalité et des liens existants avec des traits phénotypiques de production en utilisant une approche familiale.



Photo du dispositif utilisé (5 m³) pour caractériser l'audace et l'activité des individus (N=1500).

Sébastien Ferrari

Khaled Horri

François Ruelle

Alain Vergnet

Marie-Odile Vidal

Marc Vandeputte

François Allal

Béatrice Chatain

Marie-Laure Bégout

Cette dernière étude correspond au troisième objectif de cette thèse : évaluer l'héritabilité des traits de personnalité chez le bar ainsi que les liens existant entre ces derniers et des caractères phénotypiques de production. J'ai donc choisi d'utiliser les deux tests identifiés au cours de cette thèse comme les plus adaptés à notre espèce (*i.e.* le test de tolérance à l'hypoxie et le test de prise de risque). La caractérisation du coping style des individus à grande échelle était un challenge car très peu d'études comportementales ont été réalisées sur des effectifs aussi importants ($N \sim 1500$) et rien ne pouvait permettre d'affirmer qu'en groupe aussi important les individus réagiraient de la même façon. L'approche utilisée pour évaluer l'héritabilité du comportement était de créer des familles de bars à partir de parents aux caractéristiques génétiques connues, et d'évaluer si la variance additive génétique des comportements observés pouvait être expliquée par celle des parents. Nous avons donc réalisé un croisement factoriel complet entre 10 femelles et 50 males puis élevé leur descendance dans un unique bassin afin de diminuer la variabilité environnementale. Un second aspect novateur de cette étude est que nous avons appliqué pour la première fois à grande échelle la méthode de marquage RFID développée dans le chapitre 1 afin de suivre les caractéristiques de la croissance des individus dès leur plus jeune âge, ce qui a permis par ailleurs de déterminer l'héritabilité du poids et de la croissance à un âge précoce (avant 5 mois), chose impossible auparavant avec les méthodes de marquage conventionnelles. Cette étude correspond à l'article qui suit, intitulé « *Caractérisation de l'héritabilité de traits de personnalité et des liens existants avec des traits phénotypiques de production en utilisant une approche familiale* ».

Caractérisation de l'héritabilité de traits de personnalité et des liens existants avec des traits phénotypiques de production en utilisant une approche familiale.

Cas du bar européen, *Dicentrarchus labrax*

En préparation

Sébastien Ferrari^{ab}, Khaled Horri^c, Alain Vergnet^c, François Allal^c, Marc Vandeputte^{cd},
Béatrice Chatain^{bc}, Marie-Laure Bégout^a

Résumé

L'héritabilité des caractères de croissance (poids vif) et de personnalité ainsi que les corrélations génétiques entre ces caractères ont été étudiées chez 1308 bars (*Dicentrarchus labrax*) issus d'un accouplement factoriel complet de 10 femelles X 50 mâles. L'assignation de parenté a été réalisée par génotypage de 12 microsatellites identifiant 337 familles avec une assignation à 98 %. Les poissons ont été individuellement marqués à un âge précoce (95 jours post-éclosion) puis la croissance des individus a été suivie de l'âge de 95 jours post-éclosion (Poids Vif moyen (PV) \pm SD = 0.56 ± 0.15 g) à l'âge de 325 jours post-éclosion (PV moyen \pm SD = 104.66 ± 39.02 g) donnant un coefficient de croissance thermique moyen TGC = 1.09 ± 0.48 à des températures de 20.19 - 25.18 C°, la longueur à la fourche (FL) a aussi été mesurée et le coefficient de condition K calculé. La personnalité des animaux a été caractérisée à partir de deux tests distincts de comportement réalisés en situation de groupe, un test de tolérance à l'hypoxie et un test de prise de risque, ce dernier répété trois fois. Les résultats obtenus suggèrent que l'héritabilité des caractères de croissance et de personnalité aux différents âges est modérée à forte : h^2 (PV) = 0.34-0.50, h^2 (FL) = 0.48-0.61, h^2 (K) = 0.28-0.49, h^2 (TGC) = 0.15-0.55, h^2 (hypoxie) = 0.23 et h^2 (prise de risque) = 0.42. Enfin, un lien entre la croissance et la personnalité a été démontré (lien entre la prise de risque et le TGC : $-0.46 < r_G < 0.07$; lien entre comportement de tolérance à l'hypoxie et PV : $-0.11 < r_G < -0.72$). Nos résultats montrent donc que les individus réactifs (i.e. timides) ont une croissance supérieure à celle des individus de type proactifs (i.e. audacieux). L'observation de liens génétiques entre traits de personnalité et caractères phénotypiques laisse entrevoir une possible sélection des caractères de personnalité chez le bar dans un contexte de production piscicole. L'utilisation de ces traits de personnalité pourrait être un outil supplémentaire pour améliorer le processus de domestication, permettant par exemple de sélectionner des individus plus adaptés aux conditions d'élevage et/ou plus résistants aux maladies.



1. Introduction

L'étude de la variabilité inter individuelle des réponses comportementales chez les animaux est en expansion ces dernières années (Réale et al., 2010b; Castanheira et al., 2013b). Pour comprendre les bases de cette variabilité, l'étude des traits de personnalité et des réactions individuelles face à des situations stressantes est apparue comme un outil supplémentaire. De plus, cette variabilité interindividuelle dans les réponses comportementales et physiologiques est conservée dans différents taxons au cours de l'évolution ce qui suggère qu'elle possède une valeur adaptative (Wilson et al., 1994; Rexroad et al., 2012). La personnalité est composée de traits mesurables, ceux-ci étant définis comme des patrons de réponses qui s'expriment dans différents contextes et qui sont stables dans le temps (Sih et al., 2004a; Réale et al., 2007). Elle peut être classée selon cinq axes : timidité ou audace (en réponse à des situations à risque), exploration (en réponse à des situations nouvelles), activité, agressivité et sociabilité (Réale et al., 2007). Récemment, l'étude de la personnalité s'est développée aussi dans le contexte de l'aquaculture. Les individus de personnalité contrastée diffèrent dans la nature de leur réponse face à une situation stressante. Ces différences génèrent une suite de réponses corrélées au niveau physiologique et comportemental, définie sous le terme « coping style » (Koolhaas et al., 1999). On peut alors distinguer deux principaux types de réponses qui ont été tout d'abord démontrées chez les mammifères et les oiseaux, puis plus récemment chez les téléostéens. Il y a d'un côté les individus « proactifs » qui ont une réponse de combat ou de fuite (« fight-flight ») et de l'autre côté, il y a les individus « réactifs » qui ont une réponse de type immobilité (« freeze-hide ») et une forte timidité. Les individus proactifs ont tendance à essayer de fuir activement ou à contrecarrer et prendre le contrôle sur le stimulus stressant (Koolhaas et al., 1999; Koolhaas, 2008). D'un point de vue comportemental, ils sont 1) plus agressifs et dominants (Øverli et al., 2004b; Castanheira et al., 2013b) ; 2) montrent une motivation supérieure à s'alimenter après avoir été transférés dans un environnement nouveau (Øverli et al., 2007) ; 3) approchent des objets nouveaux plus rapidement (Castanheira et al., 2013b) ; 4) prennent plus de risques (*i.e.* sont plus audacieux) et sont plus enclins à explorer lorsqu'ils sont exposés à la nouveauté (Øverli et al., 2006b; MacKenzie et al., 2009) et 5) tendent à développer des routines comportementales, c'est-à-dire que leur comportement est moins flexible (Bolhuis et al., 2004; Ruiz-Gomez et al., 2011). D'un point de vue physiologique, la stratégie proactive est associée à une faible réponse de l'axe Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien (HHS) (ou axe Hypothalamo-Hypophysaire-Interrénal (HHI), chez les téléostéens) (de Boer et al., 1990; Øverli et al., 2005; Øverli et al., 2007; Silva et al., 2010) et une réactivité supérieure du système sympathique que les individus réactifs (Øverli et al., 2007). Enfin, les individus proactifs ont typiquement de plus faibles niveaux basaux de glucocorticoïdes (la principale hormone impliquée dans la réponse au stress et le produit ultime de l'activation de l'axe HHS (ou HHI)), ainsi qu'une moindre augmentation de ces niveaux durant des périodes de

stress. Les individus étant différents dans leurs réponses comportementales et physiologiques, ils sont donc susceptibles d'avoir des capacités d'adaptations différentielles selon le type d'environnement.

En effet, l'étude des stratégies de réponses comportementales ou « coping style » a de nombreuses applications dans différents domaines (revue dans [Castanheira et al., 2013b](#)) incluant l'écologie comportementale ([Réale et al., 2007](#)), les neurosciences ([Veenema et al., 2003b](#)), l'aquaculture ([Huntingford and Adams, 2005](#)), le bien-être animal ([Øverli et al., 2004b](#)), la santé et la sensibilité aux maladies ([Fevolden et al., 1993a](#); [Koolhaas, 2008](#)), les performances en élevage ([Martins et al., 2005](#)) ainsi que l'interprétation de réponses moléculaires ([MacKenzie et al., 2009](#)). L'existence d'une base génétique vient appuyer l'expression des réponses comportementales et physiologiques comme composante individuelle des « coping styles » ([Driscoll et al., 1998](#); [Lepage et al., 2000](#); [Ellenbroek and Cools., 2002](#); [Veenema et al., 2003a](#); [Veenema et al., 2003b](#); [Wright et al., 2006](#)). Différents auteurs ont créé des lignées divergentes pour certains traits comportementaux et les réponses physiologiques de stress (caractère plus audacieux et agressif, moindre élévation du taux de cortisol plasmatique après un stress) ([Pottinger and Carrick, 1999](#); [Pottinger and Carrick, 2001a](#); [Øverli et al., 2004c](#); [Øverli et al., 2006](#); [Øverli et al., 2007](#)). La sélection par inadvertance de certains « coping style » chez les téléostéens pourrait avoir des conséquences négatives pour l'aquaculture en augmentant l'occurrence des comportements agressifs par exemple, ce qui pourrait avoir un impact sur la production et compromettre le bien-être animal ([Laursen et al., 2011](#)).

Parmi les méthodes disponibles pour caractériser la personnalité sur des individus en groupe, des études ont démontré que les téléostéens de « coping styles » différents (*i.e.* proactifs-réactifs) réagissaient différemment aux conditions d'hypoxie ([van Raaij et al., 1996](#); [Brelvi et al., 2005](#); [Laursen et al., 2011](#) ; [Ferrari et al., Chap 2 & Chap 6](#)). Cela suggère que le comportement de fuite face à une situation hypoxique pourrait permettre de trier les téléostéens selon leur coping style. La mesure de la prise de risque est aussi une méthode complémentaire permettant d'évaluer l'audace, l'exploration et l'activité ([Millot et al., 2009](#); [Ferrari et al., article II – Chap 2](#)). Ce sont ces deux méthodes que nous avons retenues pour caractériser les bars de cette étude.

Le bar européen, *Dicentrarchus labrax* est une espèce de première importance pour la production aquacole en Méditerranée, et est également devenu une espèce modèle majeure pour l'étude de la génétique chez les poissons marins. Ce fut une des premières espèces de téléostéens pour laquelle une différenciation génétique significative a été établie entre un clade Atlantique et un clade Méditerranéen ([Naciri et al., 1999](#)).

La variabilité génétique des performances en élevage et du sex-ratio chez cette espèce a été largement étudiée par plusieurs auteurs ([Saillant et al., 2003](#); [Saillant et al., 2006](#); [Novel et al., 2013](#); [Daulé et al., 2014b](#); [Vandeputte et al., 2014](#)) mais à ce jour aucune étude génétique de la variabilité des traits comportementaux associés à la personnalité n'a



été conduite chez cette espèce. L'étude de la variabilité génétique des caractères de la personnalité chez les téléostéens en général à d'ailleurs été abordée par peu d'auteurs (Chervet et al., 2011; Ariyomo et al., 2013; Kortet et al., 2014) de même que les corrélations génétiques entre des traits de personnalité et des caractères de production tels que la croissance. La génétique de la personnalité n'en est qu'à ses prémices, mais quelques études ont démontré l'existence d'un *Quantitative Trait Loci* (QTL) associé à l'audace et à la réponse au stress (Benus et al., 1991; Dingemanse et al., 2002; van Oers et al., 2004; Wright et al., 2006; Dingemanse et al., 2012; Rexroad et al., 2012; Quillet et al., 2014), suggérant la possibilité de sélectionner les individus sur la base de leurs *coping styles*. En quatre générations de sélection bidirectionnelle sur le caractère audacieux et exploratoire chez la mésange charbonnière *Parus major*, (Drent et al., 2003) ont démontré que le caractère exploratoire possédait une base génétique ($h^2=0.54$). van Oers et al., (2004) ont eux démontré le caractère héritable du comportement audacieux ($h^2=0.32$) chez cette même espèce. Chez les mammifères, des lignées divergentes concernant le caractère agressif (Short Attack Latency versus Long Attack Latency, (Veenema et al., 2004; Veenema et al., 2005) ont été développées depuis plusieurs générations aux Pays Bas, ce qui signifie que le caractère agressif est aussi héritable. Enfin, chez les téléostéens, l'héritabilité de la réponse au stress et en particulier du taux de cortisol plasmatique post stress a été étudiée principalement chez les salmonidés (Fevolden et al., 1991; Fevolden et al., 1993b; Fevolden et al., 1993c; Pottinger and Pickering, 1997; Pottinger and Carrick, 1999c; Fevolden et al., 2002; Pottinger, 2003). Pottinger and Pickering, (1997) et Pottinger and Carrick, (1999) ont créé des lignées divergentes sur le taux de cortisol plasmatique chez la truite arc en ciel. Ces lignées sont aujourd'hui caractérisées pour de nombreux autres traits (comportementaux, physiologiques, neurophysiologiques et génétiques) et constituent un modèle important concernant la sélection des réponses comportementales chez les téléostéens. Elles sont divergentes sur tous les critères énoncés précédemment (Pottinger and Carrick, 2001b; Øverli et al., 2002; Øverli et al., 2004c; Øverli et al., 2005; Øverli et al., 2006a; Schjolden et al., 2006; Øverli et al., 2007; Ruiz-Gomez et al., 2008). Les populations de truites d'élevage sélectionnées pour la croissance montrent des comportements de type proactifs (Sundström et al., 2004).

L'héritabilité des performances de croissance chez le bar a déjà été étudiée dans plusieurs populations et différents environnements (Saillant et al., 2006; Dupont-Nivet et al., 2008; Karahan et al., 2013; Le Boucher et al., 2013), mais jamais à des âges précoces (avant 5 mois). Nous avons couplée notre analyse génétique de la croissance précoce à une analyse des traits de personnalité évalués à un âge ultérieur ainsi qu'à d'autres traits morpho-anatomiques mesurés tout au long de la vie de notre espèce d'intérêt. Enfin, l'utilisation des marqueurs microsatellites pour l'assignation de parenté, développée chez les téléostéens depuis le début des années 2000, permet d'élever de nombreuses familles en commun, sans biais liés à des différences d'environnement (Vandeputte et al., 2007; Dupont-Nivet et al., 2008), et donc d'étudier avec plus de précision la variabilité génétique de caractères quantitatifs comme la croissance ou la personnalité.

Les objectifs de cette étude sont (1) de mesurer la variabilité génétique chez le bar européen pour les caractères de croissance et de personnalité et (2) d'estimer les corrélations phénotypiques et génétiques entre ces caractères.

2. Matériel et méthodes

2.1. Origine génétique des individus

Les animaux ont été produits à partir d'un croisement factoriel complet de 50 pères et 10 mères réalisé par fécondation artificielle, donnant un total théorique de 500 familles de pleins-frères. Le nombre de parents a été optimisé pour obtenir une bonne précision des estimations d'héritabilité avec un échantillon de descendants mesurés de 1000 à 1500 individus, selon les recommandations de Vandeputte et al., (2001) et Dupont-Nivet et al., (2002). Les parents utilisés étaient des animaux domestiqués (c'est-à-dire nés en captivité mais sans aucune pression de sélection artificielle) de première génération issus eux-mêmes d'un croisement de parents sauvages (41 mâles et 8 femelles) d'origine Méditerranée Ouest décrit par Grima et al., 2010). Le croisement a été réalisé le 04/03/2013, selon un protocole similaire à celui décrit par Grima et al. (2010). L'ADN des 60 parents a été échantillonné pour permettre l'assignation ultérieure des descendants. Après une fécondation par mâles individuels pour éviter les risques de compétitions spermatiques, tous les descendants ont été incubés puis élevés en un seul lot à la station de recherche expérimentale Ifremer Palavas-Les-Flots. Lorsque les individus ont atteint un poids moyen de $0,56 \pm 0,15$ g (à 95 jours post éclosion, jpe), 1938 d'entre eux ont été marqués en utilisant des microtags RFID (Ferrari et al., 2014). Un second marquage a été effectué à 179 jpe sur 1536 individus survivants avec l'utilisation de PIT tags (poids moyen $13,25 \pm 4,29$ g) afin de ne pas perdre l'identité des individus à la suite de leur croissance qui rend plus difficile la lecture des microtags (Ferrari et al., 2014) mais aussi afin de réaliser les tests de personnalité décrits section 2.5. Des prélèvements d'échantillons de nageoire ont été réalisés à cette occasion pour permettre le génotypage et l'assignation des individus à leurs parents.

2.2. Performances de croissance

Les individus ont été pesés et mesurés (poids vif (PV, g) et longueur à la fourche (FL, au millimètre près, mm) lors de biométries effectuées respectivement à 95, 115, 136, 157, 179, 200, 228, 256, 305, 325 et 397 jpe (Biométrie 1 (B1) à B11 respectivement). A chaque biométrie, les poissons ont été anesthésiés avec de la benzocaïne (200 ppm). Un abattage des poissons a été réalisé à la dernière biométrie (B11, 397 jpe) pendant laquelle les poissons ont été sexés et différents organes ont été disséqués, prélevés et pesés au centième de gramme près (foie, estomac, intestin, gonade et cœur).



2.3. Modèle de Croissance

2.3.1. Coefficient de croissance thermique (TGC)

Pour une meilleure description de la croissance chez le bar au cours du temps, le modèle TGC (Thermal-unit Growth Coefficient, [Dumas et al 2007](#)) a été utilisé dans cette étude. Ce modèle de croissance est normalisé afin de tenir compte du poids initial, de l'intervalle de temps considéré et de la fluctuation journalière de la température de l'eau (Iwama and Tautz, 1981), à condition que la température reste inférieure à la température optimale pour la croissance. Pendant une période commençant au jour 0 et se terminant au jour t , il est calculé comme suit:

$$TGC = [(PV_t^{\frac{1}{3}} - PV_0^{\frac{1}{3}}) / (\sum_{i=1}^t Ti)] \times 1000 \quad (\text{Dumas et al 2007})$$

Avec :

PV_0 est le poids au jour 0 (g),

PV_t , le poids final après t jours (g),

et T_i , la température quotidienne de l'eau (C°) pour la période considérée.

2.3.2. Facteur de condition K

Le facteur de condition de Fulton K ([Strand et al., 2011](#)) renseigne sur la condition physique du poisson. Son évolution au cours de l'expérience a été étudiée.

Le K est calculé comme suit : $K = PV / FL^3 \times 10^5$

Où, PV est le poids total du poisson (g) et FL est la longueur à la fourche du poisson (mm).

2.4. Assignation de parenté

Un génotypage de 12 marqueurs microsatellites a été réalisé en sous-traitance (Labogena, Jouy-en-Josas, France) sur 1334 descendants ainsi que sur les 10 mères et les 50 pères.

Les assignations de parenté ont été effectuées à partir des génotypes, à l'aide d'un programme exécutable sous Excel (VITASSIGN 8.5, Vandeputte et al., [\(2006\)](#) et les différents types d'assignation (assignation correcte, assignation multiple, non assignés ainsi que la puissance d'exclusion théorique) ont été enregistrés.

2.5. Caractérisation des coping styles

2.5.1. Test d'hypoxie (Hypoxia test)

Ce test a été réalisé sur 1461 individus (à 255 jpe) dans un bassin circulaire (5 m³, h: 144 cm, diamètre: 210 cm, niveau d'eau : 140 cm, strictement identique au bassin d'élevage,

Figure 1) séparé en deux zones égales par une cloison opaque. La cloison comportait une ouverture circulaire (\varnothing 12cm) placée à 96 cm du fond, équipée d'une antenne détectrice de PIT tag reliée à un dispositif d'enregistrement (matériel Dorset, Pays-Bas, adapté de (Laursen et al, 2011)). Les deux zones ont été considérées comme indépendantes et soumises à des conditions différentes. Tous les individus ont été pêchés puis rassemblés dans la zone ombragée (zone où est induite l'hypoxie) où le taux d'oxygène a été diminué par un bullage d'azote au cours du test d'une durée de 2 heures. Le taux d'oxygène initial dans cette zone était de 100 % de saturation et de 10.37 % à la fin (température de l'eau 21.9°C, salinité 26.9). La seconde zone, éclairée (zone à risque) était soumise à des conditions d'oxygène optimales (normoxie, 104.1% saturation). La diminution du taux d'oxygène a été mesurée à l'aide de trois oxymètres (Odeon®), deux situés dans le côté hypoxique, l'un en bas et l'autre sous la surface de l'eau et le troisième dans la zone normoxique. Les variables d'intérêt suivies durant le test étaient le nombre de passages individuels (NBhypo), le score d'émergence (emerg_hypo), calculé selon (Milot et al., 2009b), le taux d'oxygène individuel en zone hypoxique lors du premier passage vers le côté normoxique (O2mean), calculé comme la moyenne entre le fond et la surface. La variable binaire « état » (état_hypo) représente le fait d'être sorti (1) ou pas (0) dans la zone à risque et a été calculée sur la base de NBhypo (état_hypo = 1 lorsque NBhypo \geq 1).

L'ouverture circulaire entre les deux zones a été bloquée 30 minutes avant le début du test pour l'acclimatation des poissons. Le test durait environ deux heures.

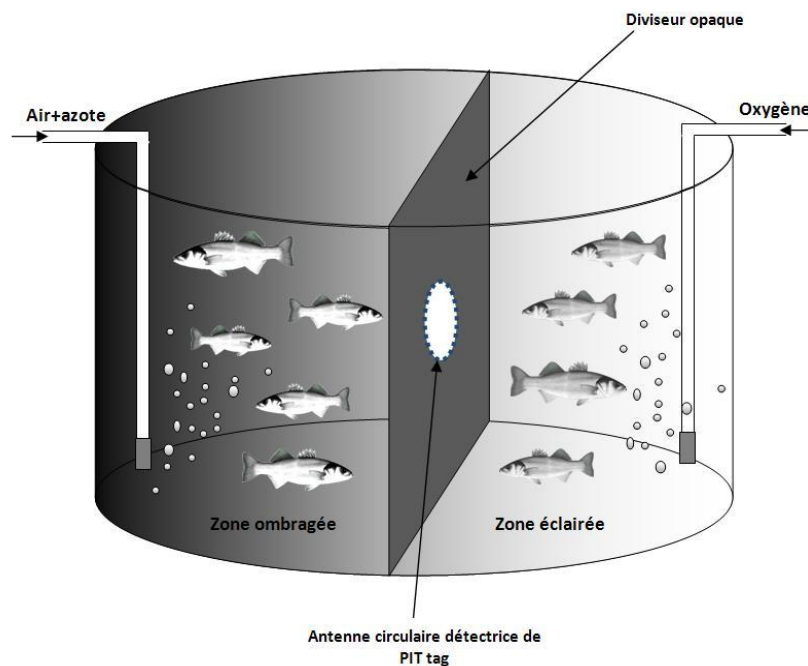


Figure 1 : Représentation schématique du dispositif expérimental utilisé pour le test d'hypoxie



2.5.2. Test de prise de risque (Risk-taking)

Trois tests de 24 h chacun ont été réalisés à 276, 286 et 304 jpe (RT1, RT2 et RT3 respectivement) sur 1451 poissons (sur les mêmes individus caractérisés par le test hypoxique à 255 jours). Les trois tests ont été effectués sur les mêmes individus dans des conditions environnementales stables et en suivant le même mode opératoire afin d'évaluer la cohérence dans le temps des réponses comportementales observées.

Ce test a été réalisé dans le même bassin expérimental que celui utilisé lors du test de tolérance à l'hypoxie avec le même équipement pour détecter les PIT tag (Figure 2). La différence réside dans le fait qu'aucune hypoxie n'a été induite lors de ce test. Les individus ont été pêchés dans leurs bassins d'élevage puis immédiatement placés dans la zone ombragée du bassin expérimental, dont l'ouverture donnant vers la zone à risque a été bloquée 30 minutes avant le début du test. Les variables d'intérêt suivies durant le test étaient : le score d'émergence (représentant le temps avant le premier passage dans la zone à risque «emerg_RT», le nombre individuel de passages « NBRT » qui a permis de calculer la variable binaire état de passage «état_RT» (sorti = 1, pas sorti =0 ; état_RT = 1 lorsque $NBRT \geq 1$). Les variables emerg_RT et état_RT ont été utilisées pour évaluer l'audace des individus, et le nombre de passage (NBRT) pour évaluer leurs niveaux généraux d'activité.

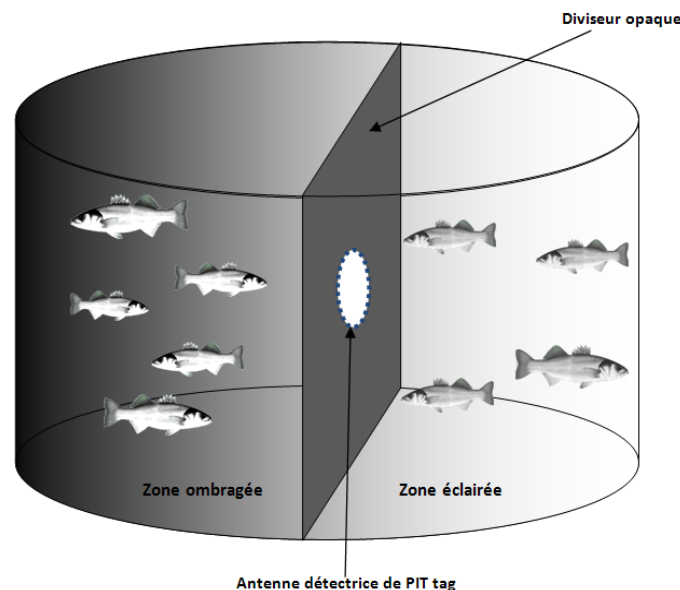


Figure 2 : Représentation schématique du dispositif expérimental utilisé pour le test de prise de risque (Risk-taking).

2.6. Analyses statistiques

2.6.1. Caractères étudiés

Les caractères analysés ont été le poids total (PV), la longueur à la fourche (FL), le taux de croissance (TGC), le facteur de condition (K), le poids des organes et les variables

comportementales (nombre de passages en hypoxie, score d'émergence en hypoxie, le taux d'oxygène au premier passage en hypoxie et état_hypo ; nombre de passages en RT, temps d'émergence en RT, et état_RT).

Dans un premier temps, une régression linéaire log-log entre le poids total à l'abattage (PV11) et le poids de chaque organe a été réalisée sous R (`reg <- lm (ln (poids organe) ~ ln PV)`). Le résidu de cette régression était ensuite utilisé comme une variable représentant le poids relatif de chaque organe, indépendante du poids total de l'individu, selon l'approche proposée par (Vandeputte et al., 2014).

Dans un second temps, la significativité de l'effet sexe (effet fixe) pour tous les caractères a été testée avec un modèle Linéaire Mixte Généralisé à l'aide de la fonction « glmer » du package lme4 pour R (Bates et al., 2014). Un modèle (Mod1) incluant un effet *sexe* (effet fixe) et un effet *père* (effet aléatoire) (`Mod1<- glmer (trait~sexe+(1|père))`) a été comparé avec un autre modèle (Mod2) sans effet *sexe* (`Mod2<- glmer (trait~1+(1|père))`) en utilisant une ANOVA (`anova (Mod1, Mod2, test=chisq)`). Après avoir réalisé le test ANOVA, l'effet *sexe* était significatif ($p < 0.05$) pour tous les caractères sauf pour le K8, le K10 et le score d'émergence en hypoxie et l'effet *sexe* a donc été conservé dans tous les modèles suivants.

2.6.2. Héritabilités et corrélations

L'héritabilité h^2 des caractères et les corrélations génétiques et phénotypiques entre ces mêmes caractères ont été calculées avec le logiciel VCE6 (Groeneveld et al., 2010). Toutes les analyses ont été effectuées en utilisant un seul modèle *père* multi-caractères avec la méthode REML (Maximum de Vraisemblance Restreinte) où l'effet génétique additif du *père* est le seul facteur aléatoire et le *sexe* comme facteur fixe. L'effet *mère* n'a pas été inclus dans le modèle car il ne permet pas d'obtenir une estimation non biaisée de l'effet génétique additif car il inclut aussi des effets maternels non génétiques (Becker, 1984).

Le modèle statistique est de la forme :

$$Y = X\beta + Zs + e$$

Avec :

Y : le vecteur des observations ;

β : vecteur des effets fixes (*sexe*) ;

s : vecteur de l'effet aléatoire *père* ;

e : vecteur des effets résiduels aléatoires ;

X, Z : matrices d'incidence connue.

La variance de la composante *père* est égale à 1/4 de la variance génétique additive, et l'héritabilité est donc estimée comme $h^2 = 4\sigma_s^2/\sigma_p^2$, avec σ_s^2 la composante *père* de la



variance et σ_p^2 la variance phénotypique totale (Lynch and Walsh, 1998). L'héritabilité des caractères binaires est estimée sur l'échelle observée (0, 1), et l'héritabilité de la variable continue sous-jacente a été estimée à partir de la formule de (Dempster and Lerner, 1950).

3. Résultats

3.1. Assignment de parenté

Les résultats de l'assignment de parenté ont permis de montrer l'existence de 337 familles avec, pour 2 mismatches accordés au maximum, 98% (N=1308) des descendants assignés correctement, 2% de descendants (N=26) présentant des assignments multiples (plusieurs couples de parents possibles ; Tableau 1), et aucun descendant non assigné. La puissance d'exclusion théorique simulée était de 99.4%, donc l'efficacité réelle de l'assignment était proche de la valeur théorique et l'utilisation de mismatches pour corriger les effets des erreurs de génotypage justifiée (Vandeputte et al., 2006).

Sur 50 pères, un seul n'a pas eu de descendants. Les poissons assignés correctement avec au maximum 2 mismatches (N=1308) ont été sélectionnés pour les analyses génétiques.

Tableau 1 : Proportion et nombre de descendants assignés à 0, 1 ou plusieurs couples de parents par exclusion avec 12 marqueurs microsatellites en autorisant jusqu'à 2 mismatches.

Type d'assignment	Nombre de mismatches		
	0	1	2
Assignment correcte (N)	90.9 % (1212)	97.9 % (1306)	98 % (1308)
Assignment multiple (N)	1.2 % (17)	1.95 % (26)	2 % (26)
Non assignés (N)	7.9 % (105)	0.15 % (2)	(0)

N = nombre de descendants assignés

3.2. Modèle de croissance

La mortalité observée au cours de l'expérience était relativement faible (12.0 % entre B1 et B2 ; 5.6 % entre B2 et B3 ; 2.3 % entre B3 et B4 ; 2.2 % entre B4 et B5 ; 1.6 % entre B5 et B6 ; 2 % entre B6 et B7 ; 1.4 % entre B7 et B8 ; 0.68 % entre B8 et B9 ; 1 % entre B9 et B10). En raison d'un problème technique, nous avons cependant eu une importante mortalité à la fin de l'expérience, entre B10 et B11 (31 %).

3.2.1. Coefficient de croissance thermique (TGC)

Les poids des bars élevés à 21.9 ± 1.73 C° ont évolués de 0.56 ± 0.65 g à 104.66 ± 39.02 g en 282 jours donnant une estimation d'un TGC global de 1.09 ± 0.48 %. Les TGC obtenus pour chaque période sont donnés dans le Tableau 2.

Le tableau 2 montre une légère augmentation du TGC (1.51 à 1.84, entre 95 et 136 jpe) suivi par une baisse entre 136 et 157 jpe. A partir du 200 jpe le TGC varie d'une manière relativement faible.

3.2.2. Facteur de condition K

Le facteur de condition (K) des individus n'est pas identique aux différents âges à l'exception de K9 (1.25) et K10 (1.24) qui sont quasiment égaux (Tableau 3). Cependant, à partir de 179 jpe et jusqu'à 256 jpe, K augmente en atteignant un pic d'une valeur de 1.3 puis il diminue jusqu'à 1.2.

Tableau 2 : Coefficient de croissance thermique estimé (% , \pm SD), température moyenne de l'eau (\pm SD), poids initial (PV_i) et poids final (PV_f).

TGC (\pm SD)	T° (\pm SD)	PV _i (\pm SD)	PV _f (\pm SD)	Age en début de période (jpe)	Durée de la période (jours)
1.51 \pm 0.26	25.18 \pm 1.61	0.56 \pm 0.15	2.03 \pm 0.65	95	20
1.81 \pm 0.25	24.11 \pm 2.22	2.03 \pm 0.65	5.95 \pm 1.84	115	21
1.84 \pm 0.29	21.60 \pm 0.74	5.95 \pm 1.84	11.65 \pm 3.64	136	21
0.42 \pm 0.15	20.19 \pm 0.18	11.65 \pm 3.64	13.24 \pm 4.30	157	22
0.95 \pm 0.29	21.05 \pm 0.77	13.24 \pm 4.30	17.69 \pm 6.18	179	21
1.16 \pm 0.29	21.80 \pm 1.99	17.69 \pm 6.18	27.29 \pm 10.11	200	28
0.88 \pm 0.24	21.24 \pm 1.59	27.29 \pm 10.11	35.98 \pm 13.76	228	28
0.73 \pm 0.19	22.01 \pm 1.12	35.98 \pm 13.76	52.37 \pm 20.58	256	49
0.89 \pm 0.30	21.67 \pm 0.51	52.37 \pm 20.58	61.73 \pm 24.29	305	20
0.74 \pm 0.20	21.55 \pm 1.04	61.73 \pm 24.29	104.66 \pm 39.02	325	72

Tableau 3 : Facteurs de condition moyens et résultats du test ANOVA un facteur. Les valeurs ayant des exposants différents sont significativement différentes ($p < 0.05$).

Age (jpe)	179	200	228	256	305	325	393
Facteur de condition	K5 (N=1528)	K6 (N=1481)	K7 (N=1450)	K8 (N=1440)	K9 (N=1429)	K10 (N=776)	K11 (N=984)
Valeur	1.09 ^a	1.15 ^b	1.17 ^c	1.3 ^f	1.25 ^e	1.24 ^e	1.19 ^d

N= effectif



3.3. Traits de personnalité (coping style)

Les individus ayant fui les conditions d'hypoxie ont été qualifiés de proactifs (Ferrari et al., article II – Chap 2) et les individus étant sortis dans la zone à risque lors du test de prise de risque ont également été qualifié de proactifs (Ferrari et al., article II – Chap 2). Les autres ont été qualifiés de réactifs. La catégorie « réactif » inclut cependant les individus au coping style « intermédiaire », non distingués en raison de l'utilisation d'une variable binaire. Le nombre, les proportions et le poids moyen des individus Réactifs et Proactifs lors des deux tests comportementaux sont résumés dans le Tableau 4 ci-dessous.

Le tableau 4 montre que les individus Réactifs (et les intermédiaires) sont plus nombreux que les individus Proactifs (14 à 20% de la population) et leur poids moyen à la fin de l'expérimentation (105.5 ± 39.6 g) était supérieur à celui des Proactifs (102.2 ± 37.1 g).

Tableau 4 : Nombre, poids moyen et proportion d'individus Réactifs et Proactifs lors des deux tests comportementaux.

		Test de prise de risque						Tolérance à Hypoxie	
		état_RT1		état_RT2		état_RT3		état_hypo	
		Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
NB	Réactif	701	425	697	416	668	405	680	422
(PV)		(46.6)	(65.7)	(46.3)	(65.6)	(46.7)	(65.54)	(31.6)	(45.2)
NB	Proactif	137	71	141	80	170	91	158	75
(PV)		(40.9)	(63.3)	(42.4)	(64.1)	(41.4)	(64.8)	(28.5)	(46.9)
% Réactif		83.65	85.68	83.17	83.87	79.71	81.65	81.15	84.9
% Proactif		16.35	14.32	16.83	16.13	20.29	18.35	18.85	15.1

PV : poids vif moyen

Par ailleurs, les proportions des individus de type Réactifs/Proactifs sont globalement les mêmes entre les tests. De même, ces proportions ne sont pas différentes selon le sexe (état_RT1 : $\chi^2=0.98$, $p>0.05$; état_RT2 : $\chi^2=0.11$, $p>0.05$; état_RT3 : $\chi^2=0.74$, $p>0.05$; état_hypo : $\chi^2=0.26$, $p>0.05$). Enfin, les corrélations phénotypiques entre les différents tests seront détaillées plus loin, mais montrent que les résultats du test de prise de risque sont cohérents dans le temps.

3.4. Héritabilités et corrélations entre les caractères

3.4.1. Héritabilité des performances de croissance

Les poids, les longueurs, les TGC et les facteurs de condition sont héréditaires et assez corrélés. Ils présentent des héritabilités comprises entre 0.34 et 0.49 pour les poids, 0.48 et 0.61 pour les longueurs, 0.15 et 0.56 pour les TGC, et entre 0.28 et 0.49 pour les coefficients de condition.

En ce qui concerne les corrélations génétiques, une forte corrélation est remarquable entre les valeurs successives d'un même caractère ($0.87 < r(PV) < 0.99$, $0.97 < r(FL) < 1$, $0.57 < r(TGC) < 0.92$ et $0.81 < r(K) < 1$). On note aussi que les corrélations décroissent en général entre des mesures éloignées dans le temps (très net pour le poids, moindre diminution pour la longueur), et les corrélations sont plus variables pour le TGC (données non présentées).

3.4.2. Héritabilité des traits de personnalité

3.4.2.1. Test de tolérance à l'hypoxie

Les valeurs des héritabilités estimées pour les variables du test de tolérance à l'hypoxie sont présentées dans le tableau 5. Elles sont relativement faibles (0.07 – 0.11), seule la variable état_hypo montre une héritabilité de 0.23 ± 0.10 (Tableau 5). Par ailleurs, les variables état_hypo et O2mean présentent une corrélation génétique de 1 et la variable état_hypo une corrélation génétique supérieure à 0.94 avec les autres variables du même test. De plus, on observe une importante corrélation génétique entre les variables NB_hypo et O2mean (0.83 ± 0.23 , Tableau 5).

Tableau 5 : Estimation des héritabilités h^2 , des corrélations génétiques et phénotypiques pour les variables d'intérêts du test de tolérance à l'hypoxie en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques \pm (SE) sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm$ (SE) sur la diagonale. NE : non estimable (i.e. non convergence du modèle).

Caractère	emerg_hypo	NBhypo	état_hypo	O2mean
emerg_hypo	0.11 (0.05)	0.78 (0.17)	0.95 (0.05)	NE
NBhypo	0.55	0.09 (0.05)	0.94 (0.09)	0.83 (0.23)
état_hypo	0.85	0.63	0.23 (0.10)	1.00 (0.00)
O2mean	NE	0.47	0.72	0.07 (0.04)

3.4.2.2. Test de prise de risque

Les héritabilités, corrélations phénotypiques et génétiques entre les trois tests successifs de prise de risque sont présentées dans les tableaux 6, 7 et 8. Le caractère audacieux (i.e. état_RT=1) est héréditaire ($h^2 = 0.39 - 0.50$, Tableau 6). Par ailleurs, les



corrélations phénotypiques sont relativement élevées (0.66 – 0.73, Tableau 6) ce qui signifie que les réponses comportementales sont cohérentes dans le temps. Les importantes corrélations génétiques entre les différentes sessions (0.99 – 1.00) montrent que c'est la même base génétique qui sous-tend la personnalité (ici l'audace) des poissons dans chacun des tests.

Tableau 6 : Estimation des héritabilités $h^2 \pm (SE)$, des corrélations génétiques $\pm (SE)$ et phénotypiques pour les variables état_RT1, état_RT2 et état_RT3 des tests de prise de risque en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques $\pm (SE)$ sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm (SE)$ sur la diagonale.

Caractère	état_RT1	état_RT2	état_RT3
état_RT1	0.50 (0.16)	0.99 (0.05)	1.00 (0.01)
état_RT2	0.66	0.38 (0.18)	0.99 (0.03)
état_RT3	0.68	0.73	0.39 (0.12)

Les variables emerg_RT1, 2 et 3 montrent des héritabilités modérées (0.20 – 0.21), autrement dit, la latence avant sortie dans la zone à risque est en partie héritable (Tableau 7). Par ailleurs, la corrélation phénotypique observée entre les sessions 1 et 2 (0.67) démontre que ce trait est cohérent dans le temps (Tableau 7).

Tableau 7 : Estimation des héritabilités h^2 , des corrélations génétiques et phénotypiques pour les variables emerg_RT1 et emerg_RT2 du test de prise de risque en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques $\pm (SE)$ sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm (SE)$ sur la diagonale. NE : non estimable (non convergence du modèle).

Caractère	emerg_RT1	emerg_RT2	emerg_RT3
emerg_RT1	0.21 (0.07)	0.98 (0.05)	NE
emerg_RT2	0.67	0.21 (0.07)	NE
emerg_RT3	NE	NE	0.20 (0.00)

Les variables NBRT1, 2 et 3 montrent une héritabilité modérée à faible (0.15 \pm 0.05, pour RT1 et 0.04 – 0.10 pour RT2 et RT3, Tableau 8). Par ailleurs, une faible corrélation phénotypique est observée entre NBRT1 et NBRT2 alors que la corrélation génétique est très élevée.

Tableau 8 : Estimation des héritabilités h^2 des corrélations génétiques et phénotypiques pour les variables NBRT1, NBRT2 et NBRT3 du test de prise de risque en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques \pm (SE) sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm$ (SE) sur la diagonale. NE : non estimable (i.e. non convergence du modèle).

Caractère	NBRT1	NBRT2	NBRT3
NBRT1	0.15 (0.05)	0.96 (0.14)	0.66 (0.25)
NBRT2	0.24	0.04 (0.02)	0.42 (0.47)
NBRT3	0.18	0.43	0.10 (0.05)

Les corrélations génétiques élevées entre les variables état_RT du test de prise de risque montrent qu'entre les sessions, les caractères évalués sont équivalents d'un point de vue génétique. Une variable moyenne sur l'ensemble des 3 sessions du test de prise de risque a donc été utilisée pour étudier les variances génétiques de ces dernières (Tableau 9).

Tableau 9 : Estimation des héritabilités h^2 des corrélations génétiques et phénotypiques pour les variables moyennées sur les trois tests du test de prise de risque en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques \pm (SE) sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm$ (SE) sur la diagonale.

Caractère	état_RTmean	NBRTmean	emerg_RTmean
état_RTmean	0.42 (0.12)	0.95 (0.27)	0.99 (0.02)
NBRTmean	0.20	0.07 (0.05)	0.93 (0.26)
emerg_RTmean	0.85	0.28	0.25 (0.07)

L'analyse nous montre une corrélation génétique très forte entre les trois variables moyennes mesurées lors des tests de prise de risque. Cependant, état_RTmean (i.e. l'audace) montre une héritabilité plus forte que les autres.

3.4.2.3. Analyse conjointe des résultats des deux tests comportementaux

Les liens entre les variables du test de prise de risque et les variables mesurées en conditions d'hypoxie ont été analysés. Les héritabilités estimées pour les variables état_hypo, état_RT1, état_RT2, état_RT3, état_RTmean, et emerg_RTmean sont les plus élevées (0.23 ± 0.10 , 0.50 ± 0.16 , 0.38 ± 0.18 , 0.39 ± 0.12 , 0.42 ± 0.12 , 0.25 ± 0.07 , respectivement). Les autres valeurs varient de 0.04 ± 0.02 à 0.21 ± 0.07 . Globalement, toutes les variables «état» qui expriment la prise de risque dans le test de tolérance à l'hypoxie et le test de prise de risque sont les plus héritables. Pour autant, état_hypo et état_RTmean sont faiblement corrélées



phénotypiquement ($r_p=0.10$), et la corrélation génétique n'est que moyenne, bien que positive ($r_g=0.43$) (Tableau 10).

Tableau 10 : Estimation des héritabilités h^2 des corrélations génétiques et phénotypiques pour les variables état_RTmean, NBRTmean, NBhypo et état_hypo en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques \pm (SE) sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm$ (SE) sur la diagonale.

Caractère	état_RTmean	NBRTmean	NBhypo	état_hypo
état_RTmean	0.42 (0.12)	0.81 (0.18)	0.43 (0.23)	0.43 (0.21)
NBRTmean	0.20	0.09 (0.04)	-0.17 (0.33)	-0.16 (0.34)
NBhypo	0.10	0.00	0.10 (0.05)	1.00 (0.05)
état_hypo	0.10	0.03	0.63	0.23 (0.10)

Au vu des résultats obtenus, les variables état_hypo et état_RTmean ont été choisies pour étudier le lien entre la croissance et la personnalité, comme représentatives de la tolérance à l'hypoxie et de la prise de risque respectivement.

3.4.3. Corrélations entre coping style et caractères phénotypiques

Les corrélations entre le poids et les variables état_hypo et état_RTmean sont négatives en général et varient légèrement entre les mesures éloignées dans le temps. Elles sont faibles pour les poids PV1 et PV2 ($0.01 < r_g < -0.19$). Dans l'ensemble, les corrélations entre les TGC et les variables état_hypo et état_RTmean sont négatives et augmentent légèrement entre la croissance précoce et tardive ($0.07 < r_g < -0.64$; données non présentées). Enfin, concernant les facteurs de condition K, des corrélations génétiques quasiment nulles ont été estimées entre les K et les variables état_hypo et état_RTmean ($0.02 \pm 0.17 < r_g < 0.30 \pm 0.21$). D'après le Tableau 11, l'héritabilité du poids relatif des organes est très variable, on observe une h^2 élevée pour le poids relatif du foie ($h^2 = 0.54$) et une h^2 très faible estimée pour le cœur ($h^2 = 0.03$) et l'estomac ($h^2 = 0.04$).

Concernant la corrélation génétique entre l'état_hypo et les autres caractères (Tableau 11), on constate globalement des corrélations génétiques négatives ($-0.36 < r_g < -0.56$) avec les caractères de croissance (sauf pour PV1 où elle est quasiment nulle, $r_g = -0.05$) et la proportion relative du foie. A l'opposé on observe des corrélations positives ($0.32 < r_g < 0.65$) avec état_RT et les autres caractères. Quant à la corrélation entre l'état_RTmean et les autres caractères (Tableau 11), elles vont globalement dans le même sens que pour état_hypo mais en étant moins marquées.

Tableau 11 : Estimation des héritabilités h^2 , des corrélations génétiques et phénotypiques pour PV1, PV11, TGC7, TGC9, état_hypo, état_RTmean et les résidus des poids relatifs des organes, en utilisant un modèle père. Les corrélations génétiques \pm (SE) sont représentées au-dessus de la diagonale, les corrélations phénotypiques sous la diagonale et les héritabilités $h^2 \pm$ (SE) sur la diagonale.

Caractère	état_RTmean	état_hypo	TGC7	TGC9	BW1	BW11	résidus_foie	résidus_estomac	résidus_intestin	résidus_gonade	résidus_coeur
état_RTmean	0.42 (0.12)	0.43 (0.15)	-0.23 (0.18)	-0.12 (0.25)	0.12 (0.12)	-0.24 (0.19)	-0.27 (0.11)	0.1 (0.29)	0.14 (0.14)	-0.78 (0.16)	-0.37 (0.3)
état_hypo	0.1	0.23 (0.1)	-0.43 (0.22)	-0.51 (0.25)	-0.06 (0.2)	-0.56 (0.21)	-0.38 (0.14)	0.48 (0.27)	0.66 (0.15)	0.01 (0.17)	0.41 (0.38)
TGC7	-0.05	-0.02	0.46 (0.1)	0.62 (0.16)	0.05 (0.16)	0.8 (0.07)	0.24 (0.11)	-0.08 (0.32)	-0.18 (0.13)	0.05 (0.18)	-0.15 (0.33)
TGC9	-0.04	0.03	0.32	0.12 (0.04)	-0.04 (0.14)	0.94 (0.05)	0 (0.16)	0.14 (0.31)	-0.45 (0.2)	-0.04 (0.22)	-0.41 (0.3)
PV1	0	-0.09	0.05	-0.03	0.36 (0.07)	0.16 (0.13)	0.35 (0.09)	0.31 (0.26)	0.01 (0.15)	-0.04 (0.16)	-0.53 (0.25)
PV11	-0.08	0.01	0.72	0.61	0.23	0.47 (0.11)	0.21 (0.09)	0.12 (0.29)	-0.25 (0.17)	-0.07 (0.19)	-0.52 (0.27)
résidus_foie	0.02	0.01	0	-0.06	0.13	-0.04	0.55 (0.13)	0.52 (0.59)	-0.28 (0.24)	0.63 (0.16)	0 (0.48)
résidus_estomac	-0.04	-0.01	-0.02	0.02	0	0	-0.02	0.02 (0.03)	0.52 (0.59)	0.74 (0.51)	0.57 (0.62)
résidus_intestin	-0.04	0.06	-0.03	-0.03	0.03	0.02	-0.09	-0.03	0.12 (0.06)	-0.14 (0.35)	-0.44 (0.53)
résidus_gonade	-0.02	-0.01	0.01	-0.07	0.19	-0.02	0.25	-0.18	-0.1	0.2 (0.08)	0.70 (0.22)
résidus_coeur	-0.03	-0.01	0	0.04	0	0.02	-0.09	0.06	-0.01	-0.05	0.02 (0.03)



4. Discussion

Dans le cadre de la présente étude, nous avons pu mesurer la variabilité génétique pour les caractères de croissance et de personnalité chez le bar (*Dicentrarchus labrax*), ainsi que les corrélations phénotypiques et génétiques entre ces caractères. Nous avons démontré que la variation dans les traits de personnalité (en particulier l'audace) est héritable dans une population de bar, et qu'il existait un lien entre croissance et traits de personnalité.

4.1. Assignment de parenté

Dans un premier temps, nous avons pu assigner correctement 98% des bars à leurs parents par génotypage de 12 marqueurs microsatellites, et identifier 337 familles. Un seul père sur 50 n'a pas eu de descendants et cela est probablement dû à une mauvaise qualité du sperme. Par ailleurs, le taux d'assignation final de 98% est dans la norme des bons résultats habituellement obtenus chez cette espèce (revue dans [Vandeputte et al., 2011](#)).

4.2. Croissance

L'évaluation de la croissance chez les bars d'un poids initial moyen de 0.56 ± 0.15 g et un poids final moyen de 104.66 ± 39.02 g, nous a permis d'estimer un TGC global de 1.09 ± 0.48 au terme de 282 jours. Cette valeur est proche de celle obtenue récemment par ([Le Boucher et al., 2013](#)) (TGC = 0.96, pour l'aliment marin). Cette estimation du taux de croissance peut être influencée par le fait que la croissance d'un téléostéen ne varie pas toujours proportionnellement avec la température, contrairement aux hypothèses sous-jacentes du modèle TGC, ce qui est considéré par Jobling, (2003) comme une limite de ce modèle. Cependant, la valeur moyenne du TGC étant supérieure à celle obtenue par ([Le Boucher et al., 2013](#)), cela veut dire que sur l'ensemble de la période, les animaux ont eu une croissance satisfaisante. En ce qui concerne le facteur de condition K qui renseigne sur le bon état physique du poisson, il est significativement variable dans le temps mais suit le même profil que celui du TGC, ce qui montre que les poissons qui grandissent rapidement sont en bon état physique.

4.3. Héritabilité des performances de croissance

Différents travaux ont montré qu'il existe une variabilité génétique du poids, de la longueur, du facteur de condition et du taux de croissance chez le bar ([Dupont-Nivet et al., 2008](#); [Le Boucher et al., 2013](#)). A notre connaissance, cette étude est la première à estimer l'héritabilité de ces caractères depuis un âge précoce chez des téléostéens (95 jpe, $PV=0.56 \pm 0.15$ g) grâce à une nouvelle méthode de marquage utilisant des microtags RFID ([Ferrari et al., 2014](#)). Les héritabilités estimées sont modérées et varient entre 0.48 et 0.61 pour la longueur, 0.34 et 0.49 pour le poids, 0.28 et 0.49 pour le facteur de condition K, et entre

0.15 et 0.56 pour le TGC (données non présentées). Ces estimations sont cohérentes avec la littérature (Dupont-Nivet et al., 2008; Le Boucher et al., 2013), en particulier l'héritabilité du facteur de condition, qui est dans la même gamme que celle estimée par Dupont-Nivet (2008) ; $h^2=0.26-0.51$. La faible héritabilité estimée pour le TGC9 ($h^2=0.15$) sort de la gamme des autres héritabilités. Une explication à cette faible valeur de h^2 serait une fluctuation du milieu ou un stress qui pourraient influencer la croissance de certains individus lors de cette période. Il est intéressant de noter que la période correspondant au TGC9 (256-305 jpe) suit le test de tolérance à l'hypoxie (255 jpe) et inclut les trois tests de prise de risque (276, 286 et 304 jpe) laissant supposer que ces tests ont pu perturber la croissance des poissons. Cela démontre que la manipulation des individus (pratique courante en aquaculture) et la réalisation de tests de personnalité, même réalisés en situation de groupe, reste un événement stressant pour le bar, impactant de fait la croissance des individus. Ces résultats mettent en avant l'importance de sélectionner des individus mieux adaptés aux conditions d'élevage, qui sont souvent stressantes (pêche, anesthésie, manipulation, transport...) et qui peuvent affecter les performances des poissons.

4.4. Caractérisation des caractères de personnalité, corrélations phénotypiques et génétiques

Généralement, les études comportementales visant à évaluer les traits de personnalité sont réalisés sur de faibles effectifs, la plupart des tests développés à présent étant des tests en situation individuelle, très coûteux en temps et ne permettant pas de caractériser un nombre important d'individus, étape nécessaire à l'étude de la variabilité génétique de caractères quantitatifs. Cette étude est la première au cours de laquelle des tests de personnalité (hypoxie et prise de risque) ont été réalisés sur des effectifs aussi importants chez des téléostéens élevés en *common garden* (N=1451 dans la présente étude). La littérature reporte des effectifs bien inférieurs : test de tolérance à l'hypoxie : N=24 individus dans (Laursen et al., 2011a; Castanheira et al., 2013b) et Ferrari et al. (Article II – Chap 2) ; test de prise de risque : N=24 dans (Castanheira et al., 2013b), N=30 dans Ferrari et al., (Article II – Chap 2) , N=60 dans (Millot et al., 2009b), N=500 dans (Millot et al., 2014). En combinaison avec la connaissance des parentés, notre étude permet donc d'évaluer la variabilité génétique des comportements étudiés. Ces tests, relativement simples et peu coûteux sont donc opérationnels pour de futurs programmes de sélection qui auraient pour but d'inclure des traits de personnalité dans un programme d'amélioration génétique.

Le test de tolérance à l'hypoxie a permis de caractériser les individus selon leurs coping style (proactif/réactif), comme démontré dans Ferrari et al., (article II – Chap 2) et le test de prise de risque a permis de caractériser les individus selon leur audace et leur activité (Ferrari et al., (Article II – Chap 2). Les fortes corrélations génétiques observées entre cette variable et les autres variables du test de tolérance à l'hypoxie (0.94-1) signifient qu'à elle seule, la variable état_hypo est la plus pertinente et peut suffire à rendre compte de la



variabilité génétique liée aux résultats de ce test. Autrement dit, c'est surtout le fait d'être sensible ou non à l'hypoxie qui est important plutôt que le seuil de sensibilité dans ce test. L'importante corrélation génétique observée entre les variables NB_hypo et O2mean (0.83 ± 0.23) montre que la part génétique expliquant la variation de l'activité individuelle est en grande partie la même que celle qui explique les niveaux de tolérance à l'hypoxie, c'est-à-dire qu'il existe un lien entre besoin en oxygène et niveau d'activité, comme l'a déjà observé (Killen et al., 2011b) sur le bar et (Herrera et al., 2014) sur la daurade royale *Sparus aurata*. Il est cependant important de remarquer que les faibles héritabilités estimées pour ces variables montrent qu'elles ont le déterminisme génétique le plus faible. Autrement dit, environ 90 % de la variance génétique expliquant activité et niveau de tolérance à l'hypoxie ne sont pas transmis par le père, et seraient donc liées à d'autres facteurs.

Quand elles sont estimables, les corrélations phénotypiques entre les différentes variables mesurées dans les trois tests de prise de risque sont variables (0.18 à 0.85) mais toujours positives, ce qui montre une cohérence dans le temps de ces réponses comportementales, quelle que soit la variable mesurée (état, nombre de passages ou score d'émergence). Ceci permet de confirmer que les comportements observés lors du test de prise de risque correspondent bien à des traits de personnalité. Les importantes corrélations génétiques observées entre les différentes sessions (0.99 – 1.00) montrent que c'est la même base génétique qui sous-tend la personnalité (ici l'audace) des poissons dans chacune des répétitions de ce test. Ces observations ont permis d'utiliser comme variable d'intérêt la moyenne des différents tests, pour chacune de ces trois variables. Des corrélations phénotypiques variables mais toujours positives (0.20-0.85) ont alors été observées entre les trois variables moyennes décrivant le test de prise de risque. Par ailleurs, une faible corrélation phénotypique a été observée entre NBRT1 et NBRT2 alors que la corrélation génétique était très élevée. Cela signifie que la variation génétique est de même nature entre les deux premières sessions du test de prise de risque, bien que les comportements observés aient variés. Ceci pourrait refléter une adaptation des individus au dispositif expérimental. L'interprétation des corrélations génétiques plutôt faibles entre NBRT2 et NBRT3 est quant à elle plus incertaine.

D'autre part, il est aussi intéressant de noter la corrélation phénotypique très faible (0.00 à 0.10) entre les variables issues des tests de tolérance à l'hypoxie et de prise de risque. Cela démontre que bien que le bassin expérimental utilisé pour ces deux test soit le même, et que les comportements observés semblaient relativement identiques (passage d'un compartiment à l'autre par un orifice de taille limitée, variables mesurées semblables (nombre de passages, temps d'émergence), ces deux différents tests évaluent des performances de nature différente. La disponibilité en oxygène dans ce test apporte une dimension supplémentaire non négligeable.

Les proportions d'individus de type proactif et réactif (+ intermédiaire) ne diffèrent pas selon le sexe dans cette étude. Cela laisse supposer que les males ne sont pas plus

audacieux que les femelles, contrairement à ce qui a été démontré chez le poisson zèbre (Ariyomo et al., 2013). Il faut cependant garder à l'esprit que la catégorie réactif inclut probablement des individus intermédiaire, ce qui pourrait changer ce résultat si les individus « intermédiaires » étaient analysés à part.

4.5. Héritabilité des traits de personnalité

Un second aspect novateur de cette étude est que l'héritabilité des traits de personnalité n'a jamais été étudiée chez le bar mais elle a cependant été estimée chez d'autres téléostéens modèles comme le poisson zèbre *Danio rerio* (Ariyomo et al., 2013), la truite commune (*Salmo trutta*, Kortet et al. 2014) ou encore chez un cichlidé social comme *Neolamprologus pulcher* (Chervet et al., 2011). Chez le bar, parmi les caractères de personnalité étudiés, deux traits intéressants ont été identifiés comme étant les plus héritable, tout en étant fortement corrélés génétiquement aux autres caractères de personnalité mesurés dans les mêmes tests. Le premier est l'état moyen de passage (état_RTmean, $h^2 = 0.42$) lors du test de prise de risque et le deuxième est l'état moyen de passage (état_hypo, $h^2 = 0.23$) lors du test de tolérance à l'hypoxie. Cette variable « état » pour les deux tests correspond au fait d'être sorti dans la zone à risque et représente donc le caractère audacieux des individus (proactifs). Pour le test de tolérance à l'hypoxie, elle représente à la fois l'audace et le fait d'être intolérant à l'hypoxie, comme démontré par (Killen et al., 2011b). L'héritabilité observée pour la variable état_hypo montre que le fait d'être sensible à l'hypoxie est en partie héritable. Cependant la faible corrélation phénotypique ($r_p = 0.10$) et la corrélation génétique modérée ($r_g = 0.42$) entre état_RTmean et état_hypo montre que ces deux tests n'évaluent pas exactement le même trait, et que la composante « hypoxie » apporte une information complémentaire par rapport à l'audace, confirmant de fait les observations de Killen et al., (2012) qui a montré que l'hypoxie était nécessaire pour montrer des liens significatifs entre prise de risque et métabolisme respiratoire. L'audace (état_RT) montre une héritabilité supérieure aux autres variables, ce qui signifie qu'elle est moins perturbée par la variabilité environnementale résiduelle, contrairement à l'activité (NBRTmean). Les héritabilités estimées pour les variables NBRT lors des trois tests de prise de risque laissent supposer que l'activité individuelle n'est pas ou peu héritable. Ces résultats vont dans le même sens que ceux observés pour la variable NB_hypo.

Les héritabilités estimées dans la présente étude sont comparables avec des héritabilités de personnalité estimées chez d'autres vertébrés (audace, exploration et agressivité : truite commune $h^2 = 0.14$ (Kortet et al., 2014); audace et agressivité : poisson zèbre $h^2 = 0.76, 0.36$ (Ariyomo et al., 2013); score exploratoire: mésentéride charbonnière, *Parus major*, $h^2 = 0.22$ à 0.61 (Dingemanse et al., 2002) ou $h^2 = 0.10-0.78$ (Drent et al., 2003), et invertébrés (réponse de fuite : pétoncle chilien *Argopecten purpuratus*, $h^2 = 0.36-0.57$ (Brokordt et al., 2012). Le fait que les deux caractères de personnalité (état_RTmean et état_hypo) soient héritable signifie qu'ils pourraient être potentiellement sélectionnables. Il



est d'ailleurs intéressant de noter que l'héritabilité estimée pour état_RTmean (i.e. l'audace) est proche de celle estimée pour la longueur des individus. Ceci pourrait avoir de nombreuses applications dans le domaine de l'aquaculture.

4.6. Corrélations entre traits de personnalité et caractères phénotypique de production

Dans l'ensemble, les corrélations entre taux de croissances et la variable « état » des tests de tolérance à l'hypoxie et de prise de risque sont négative ($0.07 < r_G < -0.64$). Cela montre que les poissons proactifs sont les plus petits et ont une croissance lente par rapport aux poissons intermédiaires et réactifs dans cette population.

Des corrélations phénotypiques quasi nulles ont été observées entre poids et activité dans les deux tests réalisés alors que les corrélations génétiques étaient positives avec le test de prise de risque et négatives avec le test de tolérance à l'hypoxie. Cela semble indiquer que les individus audacieux lors du test de prise de risque ont un potentiel de croissance supérieur (bien qu'ils soient plus petits). A l'inverse, les individus audacieux dans le test de tolérance à l'hypoxie auraient un potentiel de croissance plus faible (ce qui semble assez paradoxal), qui pourrait expliquer les faibles corrélations (génétiques et phénotypiques) entre les deux tests. Par ailleurs, les corrélations phénotypiques quasiment nulles qui ont été observées entre état_hypo, état_RT et les poids moyens montrent que la taille ne joue pas sur le fait de sortir ou non lors du test de tolérance à l'hypoxie et du test de prise de risque.

Dans notre étude, nous observons une large proportion d'individus de type réactifs (+ intermédiaires). Cela est probablement dû à l'origine génétique de notre espèce, qui en est à ses prémices dans l'histoire de sa domestication (*bien que cela puisse être aussi dû au niveau d'audace requis qui pourrait être trop important*). En effet, la population étudiée est issue d'individus nés en captivité, mais n'ayant subi aucune pression de sélection, autrement dit ayant une importante variabilité génétique proche de celle des individus sauvages. Une étude comparant des bars en première génération de domestication à des individus sauvages a d'ailleurs pu montrer un niveau de performances de croissance moyen équivalent entre les deux (Vandeputte et al., 2009). Cependant, lorsque la dimension personnalité est ajoutée, des différences dans les liens entre phénotypes croissance / prise de risque apparaissent, comme démontré par (Milot et al., 2009b). Ces auteurs ont mis en évidence que dans une population non sélectionnée, les individus réactifs ont des poids supérieurs aux individus proactifs alors que l'inverse est observé dans les populations sélectionnées pour la croissance. Ces résultats sont confirmés par notre étude, où nous observons sur une population non sélectionnée que les individus réactifs ont une croissance supérieure à celle des individus proactifs. Une autre étude a d'ailleurs montré que les truites « sauvages » de type réactif avaient une croissance supérieure en milieu naturel (Adriaenssens and Johnsson, 2011b), alors que de nombreuses études montrent que la

sélection pour la croissance co-sélectionne des individus audacieux et proactifs (Huntingford, 2004; Sundström et al., 2004; Huntingford et al., 2006). Les résultats obtenus dans notre étude vont donc dans le sens de la littérature, tout du moins en ce qui concerne l'audace déterminée par le test de prise de risque qui ferait ressortir les individus avec un potentiel de croissance supérieur.

L'existence de liens entre les traits de personnalité déterminés par les deux différents tests et des caractères phénotypiques comme la croissance est donc confirmée. Ces résultats laissent supposer que caractériser les individus en fonction de leur comportement pourrait améliorer le processus de domestication. En effet, l'existence de corrélations génétiques entre traits de personnalité et caractères phénotypiques ouvre la voie à de nouveaux terrains de recherches. Par exemple, des études ont montré des différences de sensibilité aux pathogènes chez les individus de coping styles différents (Fevolden et al., 1993a; Koolhaas, 2008). Fevolden et al., (1993) ont suggéré que la sélection des individus selon leurs coping styles plutôt que sur des caractères immunitaires spécifiques (qui sont par ailleurs plus difficiles à sélectionner), pourrait améliorer les mécanismes de défense immunitaire sur un spectre plus large, permettant ainsi une amélioration globale de la résistance à certaines maladies. Par ailleurs, MacKenzie et al., (2009) ont montré des divergences dans l'expression des gènes régulant les réponses inflammatoires, suggérant des différences fondamentales dans la régulation des cytokines chez des individus de coping styles différents. C'est le cas en particulier du facteur de nécrose tumorale-alpha (TNFa) et de l'interleukine 1 – bêta (IL1 β), principales cytokines impliquées dans le développement de l'inflammation chez les téléostéens. Enfin, les individus de coping styles divergents diffèrent aussi dans leurs réponses physiologiques suite à des stress (en particulier leurs taux de cortisol plasmatiques). Sélectionner les individus sur la base de leurs coping style pourrait aussi permettre d'améliorer la qualité de la chair (Pottinger, 2001), qui est connue pour être affectée par le stress, par exemple lors de l'abattage.

L'existence de coping styles chez les téléostéens pourrait permettre d'adapter soit les conditions d'élevages aux profils comportementaux des espèces, soit d'adapter les profils comportementaux aux conditions d'élevage. En effet, dans des populations sélectionnées pour la croissance, les individus proactifs sont plus performants lorsque toutes les conditions sont très stables, et la nourriture abondante, mais leurs croissances peut s'effondrer lors de fluctuations du milieu. A l'inverse, les individus réactifs sont moins compétitifs et moins performants lorsqu'ils sont en compétition avec des individus proactifs, mais ils s'adaptent mieux à des milieux fluctuants. Cela permettrait de développer des lignées adaptées à différents types d'élevage (intensifs, extensifs, en cages etc...). Cependant, des études supplémentaires sont nécessaire afin de déterminer si la sélection pour la croissance (qui prévaut à l'heure actuelle), n'impacte pas de manière négative les caractères précités. L'importante variabilité génétique observée chez les téléostéens en raison de leurs domestication très récente permet cependant une réponse très rapide à la sélection, ayant parfois des effets dès la première génération (Vandeputte and Prunet, 2002; Bégout Anras



and Lagardère, 2004; Huntingford, 2004). Cela permet donc d'envisager de nouvelles perspectives pour les futurs programmes de sélection chez les téléostéens.

5. Conclusions

Dans cette étude nous avons démontré pour la première fois que des caractères de personnalité chez le bar *D. labrax* sont héréditaires et que ces caractères sont associés avec la croissance. L'existence de ces liens entre coping styles et caractères phénotypiques permet d'envisager l'utilisation de tests de personnalité afin d'améliorer le processus de domestication, comme par exemple la sélection de coping styles divergents qui pourraient correspondre à des individus plus résistants aux maladies, ou mieux adaptés à leur environnement. Enfin, la fiabilité des résultats obtenus a été assurée par l'utilisation d'un effectif élevé de poissons de parents connus, issus d'un plan de croisement contrôlé. Cette étude ouvre ainsi de nouveaux champs de recherches pour une sélection visant à améliorer les performances des poissons dès les stades précoces en prenant en compte leur comportement.

6. Perspectives

Il faut garder à l'esprit que, les individus ont été caractérisés à un âge de 255 jpe pour l'hypoxie et de 276 à 304 jpe pour la prise de risque et le lien avec la croissance a été observé principalement sur le poids final à 396 jpe. Comme les corrélations génétiques entre les caractères de croissance sont très élevées pour les âges proches et décroissent en général entre des mesures éloignées dans le temps, cela signifie que pour une sélection visant à améliorer ces caractères, le résultat ne sera pas le même entre une sélection à un âge précoce et une sélection à un âge tardif. Dans l'optique de caractériser les individus selon leurs comportements à un âge précoce, afin par exemple d'améliorer les performances de croissance, il faudrait aussi caractériser le comportement à un âge précoce et vérifier si les corrélations avec les traits phénotypiques de production (au même âge précoce) seraient toujours significatives.

Bibliographie

- Adriaenssens, B., Johnsson, J.I., 2011. Shy trout grow faster: exploring links between personality and fitness-related traits in the wild. *Behavioral Ecology* 22, 135-143.
- Ariyomo, T., Carter, M., Watt, P., 2013. Heritability of Boldness and Aggressiveness in the Zebrafish. *Behavior Genetics* 43(2): 161-167.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R.H.B., Singmann, H., Dai, B., 2014. Package 'lme4': Linear mixed-effects models using Eigen and S4. CRAN.
- Becker, W.A., 1984. *Manual of Quantitative Genetics*. Academic Enterprises, Pullman, Washington, 188 pp.
- Bégout Anras, M.L., Lagardère, J.P., 2004. Domestication et comportement chez les poissons téléostéens. *INRA Production Animale* 17, 211-215.
- Benus, R.F., Bohus, B., Koolhaas, J.M., Oortmerssen, G.A., 1991. Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia* 47, 1008-1019.
- Bolhuis, J.E., Schouten, W.G.P., Leeuw, J.A.d., Schrama, J.W., Wiegant, V.M., 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioral flexibility in pigs. *Behavioral Brain Research* 152, 351-360.
- Brokordt, K., FarÅas, W., Lhorente, J.P., Winkler, F., 2012. Heritability and genetic correlations of escape behaviors in juvenile scallop *Argopecten purpuratus*. *Animal Behavior* 84, 479-484.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceicao, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013a. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013b. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Chervet, N., Zöttl, M., Schürch, R., Taborsky, M., Heg, D., 2011. Repeatability and Heritability of Behavioral Types in a Social Cichlid. *International Journal of Evolutionary Biology*, vol. 2011, Article ID 321729, 15 pages.
- Daulé, S., Vandeputte, M., Vergnet, A., Guinand, B., Grima, L., Chatain, B.a., 2014. Effect of selection for fasting tolerance on feed intake, growth and feed efficiency in the European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 420-421, Supplement 1, S42-S49.
- de Boer, S.F., de Beun, R., Slangen, J.L., van der Gugten, J., 1990. Dynamics of plasma catecholamine and corticosterone concentrations during reinforced and extinguished operant behavior in rats. *Physiology & Behavior* 47, 691-698.
- Dempster, E.R., Lerner, I.M., 1950. Heritability of threshold characters. *Genetics* 35, 212-236.
- Dingemanse, N.J., Barber, I., Wright, J., Brommer, J.E., 2012. Quantitative genetics of behavioral reaction norms: genetic correlations between personality and behavioral plasticity vary across stickleback populations. *Journal of Evolutionary Biology* 25, 485-496.
- Dingemanse, N.J., Both, C., Drent, P.J., van Oers, K., van Noordwijk, A.J., 2002. Repeatability and heritability of exploratory behavior in great tits from the wild. *Animal Behavior* 64, 929-938.
- Drent, P.J., van Oers, K., van Noordwijk, A.J., 2003. Realized heritability of personalities in the great tit (*Parus major*). *Proc Biol Sci.* 270, 45-51.
- Driscoll, P., Escorihuela, R.M., Fernandez-Teruel, A., Giorgi, O., Schwegler, H., Steimer, T., Wiersma, A., Corda, M.G., Flint, J., Koolhaas, J.M., Langhans, W., Schulz, P.E., Siegel, J., Tobenã, A., 1998.



- Genetic selection and differential stress responses—the Roman lines/strains of rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 851, 501-510.
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Chevassus, B., 2002. Optimization of factorial mating designs for inference on heritability in fish species. *Aquaculture* 204, 361-370.
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Vergnet, A., Merdy, O., Haffray, P., Chavanne, H., Chatain, B., 2008a. Heritabilities and GxE interactions for growth in the European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree. *Aquaculture* 275, 81-87.
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Vergnet, A., Merdy, O., Haffray, P., Chavanne, H., Chatain, B., 2008b. Heritabilities and GxE interactions for growth in the European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree. *Aquaculture* 275, 81-87.
- Ellenbroek, B.A., Cools, A.R., 2002. Apomorphine susceptibility and animal models for psychopathology: Genes and environment. *Behav. Genet.* 32, 349-361.
- Ferrari, S., Chatain, B., Cousin, X., Leguay, D., Vergnet, A., Vidal, M.-O., Vandeputte, M., Bégout, M.-L., 2014. Early individual electronic identification of seabass using RFID microtags: A first example of early phenotyping of sex-related growth. *Aquaculture* 426–427, 165-171.
- Fevolden, S.-E., Røed, K.H., Fjalestad, K.T., 2002. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture* 205, 61-75.
- Fevolden, S.E., Nordmo, R., Refstie, T., Røed, K.H., 1993a. Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) selected for high or low responses to stress. *Aquaculture* 109, 215-224.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Gjerde, B., 1993b. Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* 118, 205-216.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Røed, K., 1993c. Selection for enhanced stress resistance in salmonid fish. *Aquaculture* 111, 293-293.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Røed, K.H., 1991. Selection for high and low cortisol stress response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 95, 53-65.
- Grima, L., Chatain, B., Ruelle, F., Vergnet, A., Launay, A., Mambrini, M., Vandeputte, M., 2010. In search for indirect criteria to improve feed utilization efficiency in seabass (*Dicentrarchus labrax*): Part II: Heritability of weight loss during feed deprivation and weight gain during re-feeding periods. *Aquaculture* 302, 169-174.
- Groeneveld, E., Kovac, M., Mielenz, N., 2010. VCE User's Guide and Reference Manual Version 6.0.
- Herrera, M., Castanheira, M.F., Conceição, L.E.C., Martins, C.I., 2014. Linking risk taking and the behavioral and metabolic responses to confinement stress in gilthead seabream *Sparus aurata*. *Applied Animal Behavior Science* 155, 101-108.
- Huntingford, F.A., 2004. Implications of domestication and rearing conditions for the behavior of cultivated fish. *Journal of Fish Biology* 65, 122-142.
- Huntingford, F.A., Adams, C.E., 2005. Behavioral syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behavior*, 1-15.
- Iwama, G.K., Tautz, A., 1981. A simple growth model for salmonids in hatcheries. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38, 649-656.
- Jobling, M., 2003. The thermal growth coefficient (TGC) model of fish growth: a cautionary note. *Aquaculture Research* 34, 581-584.
- Karahan, B., Chatain, B., Chavanne, H., Vergnet, A., Bardon, A., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., 2013. Heritabilities and correlations of deformities and growth-related traits

- in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*, L) in four different sites. *Aquaculture Research* 44, 289-299.
- Killen, S.S., Marras, S., Ryan, M.R., Domenici, P., McKenzie, D.J., 2011. A relationship between metabolic rate and risk-taking behavior is revealed during hypoxia in juvenile European seabass. *Functional Ecology* 26, 134-143.
- Koolhaas, J.M., 2008. Coping style and immunity in animals: Making sense of individual variation. *Brain, Behavior, and Immunity* 22, 662-667.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Kortet, R., Vainikka, A., Janhunen, M., Piironen, J., Hyvärinen, P., 2014. Behavioral variation shows heritability in juvenile brown trout *Salmo trutta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 68(6): 927-934.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011a. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.
- Laursen, D.C., Olsén, H.L., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011b. Behavioral responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behavior Science* 132, 211-216.
- Le Boucher, R., Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Quillet, E., Ruelle, F., Vergnet, A., Kaushik, S., Allamellou, J.M., Médale, F., Chatain, B., 2013. Genotype by diet interactions in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.): Nutritional challenge with totally plant-based diets. *Journal of Animal Science* 91, 44-56.
- Lepage, O., Øverli, Ø., Petersson, E., Jarvi, T., Winberg, S., 2000. Differential stress coping in wild and domesticated sea trout. *Brain. Behav. Evol.* 56, 259-268.
- Lynch, M., Walsh, B., 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 980.
- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D.M., Kadri, S., Huntingford, F.A., 2009. Screening for Coping Style Increases the Power of Gene Expression Studies. *PLoS ONE* 4, e5314.
- Martins, C.I.M., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2005. The consistency of individual differences in growth, feed efficiency and feeding behavior African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) housed individually. *Aquaculture Research* 36, 1509-1516.
- Millot, S., Bégout, M.L., Chatain, B., 2009. Risk-taking behavior variation over time in seabass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *Journal of Fish Biology* 75, 1733-1749.
- Millot, S., Péan, S., Labbé, L., Kerneis, T., Quillet, E., Dupont-Nivet, M., Bégout, M.-L., 2014. Assessment of Genetic Variability of Fish Personality Traits using Rainbow Trout Isogenic Lines. *Behavior Genetics*, 1-11.
- Naciri, M., Lemaire, C., Borsa, P., Bonhomme, F., 1999. Genetic study of the Atlantic/Mediterranean transition in seabass (*Dicentrarchus labrax*). *J Hered* 90, 591-596.
- Novel, P., Porta, J., Fernández, J.s., M   ndez, T., Gallardo-Gálvez, J.B., B   jar, J., Alvarez, M.C., 2013. Critical points for the maintenance of genetic variability over a production cycle in the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 416  417, 8-14.



- Øverli, Ø., Korzan, W.J., Höglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Øverli, E., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004a. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 45, 235-241.
- Øverli, Ø., Korzan, W.J., Larson, E.T., Winberg, S., Lepage, O., Pottinger, T.G., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004b. Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. *Hormones and Behavior* 45, 324-329.
- Øverli, Ø., Pottinger, T.G., Carrick, T.R., Øverli, E., Winberg, S., 2002. Differences in behavior between rainbow trout selected for high- and low-stress responsiveness. *Journal of Experimental Biology* 205, 391-395.
- Overli, O., Sorensen, C., Kiessling, A., Pottinger, T., Gjoen, H., 2006. Selection for improved stress tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leads to reduced feed waste. *Aquaculture* 261, 776 - 781.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Kiessling, A., Pottinger, T.G., Gjøen, H.M., 2006a. Selection for improved stress tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leads to reduced feed waste. *Aquaculture* 261, 776–781.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Nilsson, G.E., 2006b. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? *Physiology & Behavior* 87, 506-512.
- Øverli, Ø., Sorensen, C., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E., 2007. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 31, 396-412.
- Øverli, Ø., Winberg, S., Pottinger, T.G., 2005. Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Selection for Stress Responsiveness in Rainbow Trout—a Review. *Integrative and Comparative Biology* 45, 463-474.
- Pottinger, T., Carrick, T., 2001a. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Horm Behav* 40, 419 - 427.
- Pottinger, T.G., 2001. Effects of husbandry stress on flesh quality indicator in fish, in: Kestin, S.C., Warriss, P.D. (Eds.), *Farmed fish quality*, Blackwell science, Bristol, pp. 145-160.
- Pottinger, T.G., 2003. The selection of trout for high and low responsiveness to stress: progress and prospects *Trout News*, CEFAS 36, 14-16.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999a. Modification of plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *General and Comparative Endocrinology* 116, 122-132.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999b. Modification of the Plasma Cortisol Response to Stress in Rainbow Trout by Selective Breeding. *General and Comparative Endocrinology* 116, 122-132.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 2001b. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 40, 419-427.
- Pottinger, T.G., Pickering, A.D., 1997. Genetic Basis to the Stress Response: Selective Breeding for Stress-tolerant Fish, In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.). *Fish Stress and Health in Aquaculture*, Cambridge University Press, Cambridge, 171-193.
- Quillet, E., Krieg, F., Dechamp, N., Hervet, C., Bérard, A., Le Roy, P., Guyomard, R., Prunet, P., Pottinger, T.G., 2014. Quantitative trait loci for magnitude of the plasma cortisol response to confinement in rainbow trout. *Animal Genetics* 45, 223-234.

- Réale, D., Garant, D., Humphries, M.M., Bergeron, P., Careau, V., Montiglio, P.-O., 2010. Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 4051-4063.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291-318.
- Rexroad, C., Vallejo, R., Liu, S., Palti, Y., Weber, G., 2012. QTL affecting stress response to crowding in a rainbow trout broodstock population. *BMC Genetics* 13, 97.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Huntingford, F.A., Øverli, Ø., Thörnqvist, P.-O., Höglund, E., 2011. Response to environmental change in rainbow trout selected for divergent stress coping styles. *Physiology & behavior* 102, 317-322.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Kittilsen, S., Höglund, E., Huntingford, F.A., Sørensen, C., Pottinger, T.G., Bakken, M., Winberg, S., Korzan, W.J., Øverli, Ø., 2008. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: When doves become hawks. *Hormones and Behavior* 54, 534-538.
- Saillant, E., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Chatain, B., 2006. Estimates of heritability and genotype environment interactions for body weight in seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions. *Aquaculture* 254 139-147.
- Saillant, E., Fostier, A., Haffray, P., Menu, B., Laureau, S., Thimonier, J., Chatain, B., 2003. Effects of rearing density, size grading and parental factors on sex ratios of the seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) in intensive aquaculture. *Aquaculture* 221, 183-206.
- Schjolden, J., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Metcalfe, N.B., Winberg, S., 2006. Divergence in locomotor activity between two strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* with contrasting stress responsiveness. *Journal of Fish Biology* 68, 920-924.
- Sih, A., Bell, A., Chadwick Johnson, J., 2004. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 372-378.
- Silva, P.I.M., Martins, C.I.M., Engrola, S., Marino, G., Øverli, Ø., Conceição, L.E.C., 2010. Individual differences in cortisol levels and behavior of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behavior Science* 124, 75-81.
- Strand, A., C., , Magnhagen, A., Alanärä, A., 2011. Growth and Energy Expenditures of Eurasian Perch *Perca fluviatilis* (Linnaeus) in Different Temperatures and of Different Body Sizes. *J Aquac Res Development* 2, 114.
- Sundström, L.F., Peterson, E., Höjesjö, J., Johnsson, J.I., Järvi, T., 2004a. Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance. *Behavioral Ecology* 15, 192-198.
- Sundström, L.F., Petersson, E., Höjesjö, J., Johnsson, J.I., Järvi, T., 2004. Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance. *Behavioral Ecology* 15, 192-198.
- van Oers, K., Drent, P.J., de Goede, P., van Noordwijk, A.J., 2004. Realized heritability and repeatability of risk-taking behavior in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271, 65-73.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Chatain, B., Chevassus, B., 2001. Setting up a strain-testing design for the seabass, *Dicentrarchus labrax*: a simulation study. *Aquaculture* 202, 329-342.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Chavanne, H., B., C., 2007. A polygenic hypothesis for sex determination in the European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Genetics* 176, 1049-1057.



- Vandeputte, M., Garouste, R., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Vergnet, A., Chavanne, H., Laureau, S., Ron, T.B., Pagelson, G., Mazorra, C., Ricoux, R., Marques, P., Gameiro, M., Chatain, B., 2014a. Multi-site evaluation of the rearing performances of 5 wild populations of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 424–425, 239-248.
- Vandeputte, M., Garouste, R., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Vergnet, A., Chavanne, H., Laureau, S., Ron, T.B., Pagelson, G., Mazorra, C., Ricoux, R.m., Marques, P., Gameiro, M., Chatain, B.a., 2014b. Multi-site evaluation of the rearing performances of 5 wild populations of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 424–425, 239-248.
- Vandeputte, M., Mauger, S., Dupont-Nivet, M., 2006a. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. *Molecular Ecology Notes* 6, 265-267.
- Vandeputte, M., Mauger, S., Dupont-Nivet, M., 2006b. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. *Molecular Ecology Notes* 6, 265-267.
- Vandeputte, M., Prunet, P., 2002. Génétique et adaptation chez les poissons : domestication, résistance au stress et adaptation aux conditions de milieu. *INRA Productions Animales* 15, 365-371.
- Vandeputte, M., Rossignol, M.N., Pincent, C., 2011. From theory to practice: empirical evaluation of the assignment power of marker sets for pedigree analysis in fish breeding. *Aquaculture* 314, 80-86.
- Veenema, A.H., Meijer, O.C., de Kloet, E.R., Koolhaas, J.M., 2003a. Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. *Journal of Neuroendocrinology* 15, 256-267.
- Veenema, A.H., Meijer, O.C., de Kloet, E.R., Koolhaas, J.M., Bohus, B.G., 2003b. Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. *Hormones and Behavior* 43, 197-204.
- Wilson, D.S., Clark, A.B., Coleman, K., Dearstyne, T., 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 442-446.
- Wright, D., Nakamichi, R., Krause, J., Butlin, R., 2006. QTL Analysis of Behavioral and Morphological Differentiation Between Wild and Laboratory Zebrafish (*Danio rerio*). *Behavior Genetics* 36, 271-284.

Discussion Générale



Commençons tout d'abord par rappeler les objectifs de ces travaux de thèse :

- 1) Développer une procédure multicritères pour caractériser la personnalité des téléostéens, et en particulier chez le bar européen.
- 2) Caractériser la variabilité des réponses comportementales observées chez différentes populations et lignées de bars.
- 3) Estimer l'héritabilité de traits de personnalité chez le bar européen et évaluer les corrélations existantes avec des caractères phénotypiques de production.

Nous verrons dans une première partie quels sont les tests et les variables les plus pertinents pour caractériser la personnalité chez le bar, en situation individuelle puis en groupe. Nous discuterons ensuite les facteurs à prendre en compte lors de la réalisation de ces tests chez notre espèce modèle. Dans une seconde partie, nous aborderons la variabilité observée dans les comportements mais aussi dans les proportions d'individus appartenant à chaque coping style. Dans une troisième partie, nous évaluerons la cohérence des traits de personnalité dans le temps. Dans une quatrième partie, nous discuterons les liens entre traits de personnalité et coping styles, puis discuterons les liens avec d'autres variables physiologiques (dont le taux de cortisol), la perception du stress et le bien-être. Enfin, dans une cinquième partie, nous discuterons les résultats observés quant à l'héritabilité de certains traits de la personnalité chez le bar, puis les implications que cela peut avoir dans les programmes de sélection. Enfin, nous concluons avec des Perspectives à ces travaux.

Comme vous le remarquerez, je discuterai ces résultats à la première personne du pluriel, car il n'aura échappé à personne qu'un programme Européen d'une telle ampleur est le fruit d'un travail collaboratif. Même si la grande majorité des travaux présentés dans cette thèse ont été mis au point, encadrés, analysés et rédigés par moi-même, rien n'aurait été possible sans le travail concerté ayant abouti à ce projet, mais aussi sans les nombreuses réunions entre les différents participants et/ou partenaires menant toutes à d'intéressantes discussions sur les trois espèces d'intérêt du projet, permettant ainsi de prendre le recul nécessaire à la réalisation et l'interprétation de ces travaux.

1. Caractérisation et variabilité des traits de personnalité

Nombreuses sont les études sur la caractérisation des traits de personnalité chez les animaux. L'étude de la personnalité animale et des coping styles date des années 1980-1990, et depuis, le nombre d'articles scientifiques traitant du sujet augmente exponentiellement (Réale et al., 2010a). Les traits de personnalité chez les animaux étant définis généralement selon 5 axes, il en ressort que les tests permettant de caractériser les individus selon ces axes sont globalement similaires chez les différents taxons. Que se soit chez les mammifères, les oiseaux ou les téléostéens, les principaux tests utilisés sont généralement simplement adaptés au modèle d'intérêt. Ceci présente par ailleurs l'avantage

de pouvoir comparer les réponses comportementales chez différentes espèces et donc de voir les traits de personnalité partagés entre ces dernières.

Pour mémoire, un des objectifs du projet FP7 Copewell, est de développer des indicateurs permettant de caractériser la personnalité des individus des différentes espèces d'intérêts, le saumon atlantique, la daurade royale, et le bar. A partir de populations caractérisées, l'objectif est de mieux comprendre les mécanismes à la base des réponses comportementales, leurs bases physiologiques et génétiques, ainsi que l'ontogénèse de ces dernières. Une application possible est d'identifier les individus mieux adaptés à leur environnement, et donc potentiellement d'améliorer leur bien-être. D'un côté, la détermination précise des mécanismes sous-jacents nécessite l'utilisation de tests en situation individuelle afin d'atteindre un niveau satisfaisant de précision. D'un autre côté, la mise en place de programmes de sélection requiert un nombre important d'individus. A ces fins, l'approche en situation de groupe est essentielle, et présente plusieurs avantages. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

Dans l'optique de caractériser les traits de personnalité chez les téléostéens, nous avons donc au cours de ces travaux réalisé différents tests couramment utilisés dans la littérature puis essayé de déterminer lesquels étaient les mieux adaptés à notre modèle, le bar. La partie 1 de cette thèse était donc consacrée à la caractérisation des réponses individuelles dans différentes situations, à étudier les réponses physiologiques liées à ces différences inter individuelles mais aussi à évaluer les liens existants entre les comportements observés et leurs cohérences dans le temps.

1.2. Approche en situation individuelle

Dans le Chapitre 2, nous avons donc choisi de caractériser les bars en situation individuelle au moyen de 4 tests : 1) un test de reprise alimentaire après transfert en situation isolée, 2) un test d'interaction dyadique, 3) un test d'exploration dans un labyrinthe en T et 4) un test de contention. Dans le Chapitre 5 (Ferrari et al., sous presse), nous avons réalisé un test supplémentaire en situation individuelle évaluant le comportement exploratoire dans une zone ouverte, puis dans le Chapitre 6, un test d'interaction sociale. Les comportements observés lors de ces tests se sont montrés être très variables selon les individus, révélant une importante plasticité comportementale chez cette espèce, probablement liée à sa récente domestication (importante variabilité génétique), mais surtout aux différences marquées de personnalité entre les individus. Comme attendu, nous avons observé des individus aux comportements diamétralement opposés (avec évidemment des individus aux comportements intermédiaires). Par exemple, lors du test de reprise alimentaire, certains individus ont recommencé à s'alimenter dès le lendemain du transfert alors que d'autres ont attendu jusqu'à six jours avant de se remettre à manger. Lors du test d'exploration, certains individus ne sont pas sortis de la zone de départ alors que d'autres ont exploré tout le labyrinthe (Figure 1).

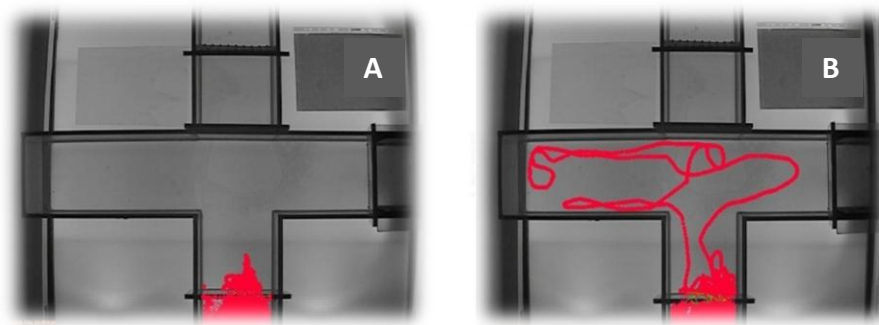


Figure 1 : Exemple de comportements observés lors du test exploratoire ; la ligne rouge correspond au trajet effectué par l'individu sur l'ensemble du test : A - individu réactif ; B - individu proactif.

Chacun des tests réalisés s'est avéré discriminant, sauf le test d'interaction dyadique pour mesurer l'agressivité : un seul individu a montré des comportements agressifs envers un conspécifique. Ceci n'a rien d'étonnant en raison du gréganisme avéré chez cette espèce au stade juvénile.

1.3. Les variables pertinentes pour caractériser la personnalité en situation individuelle chez le bar

Quelques soient les tests utilisés, les variables les plus pertinentes pour étudier la personnalité en situation individuelle chez cette espèce sont la distance parcourue et la vitesse de nage, représentatives de l'activité des individus ; le nombre de zones virtuelles visitées, représentatif de la capacité exploratoire ; mais aussi et surtout, la latence pour émerger d'un abri, l'éloignement moyen d'un abri ainsi que le temps passé dans une zone ouverte (risquée), révélateurs du caractère audacieux de l'individu. Pour des tests individuels visant à caractériser la personnalité, et en particulier l'exploration, l'activité et l'audace, je recommande donc l'utilisation du test en zone ouverte ou « open field », ainsi qu'un challenge avec un abri, afin de déterminer les temps mis par les individus pour récupérer d'un stress (comme une manipulation ou bien une simulation de prédateur, par exemple). Comme le souligne Réale et al., (2007), répéter le test « open field » dans un intervalle court permettrait de différencier l'activité de l'exploration, en effet, l'environnement n'étant plus nouveau le comportement mesuré révélerait l'activité de nage et non les capacités d'exploration. Cependant, en raison du caractère très sensible du bar face au stress, il est compliqué de savoir comment la situation a été vécue par l'animal lors du premier test, ceci pouvant évidemment influencer le comportement lors du second (difficile d'éviter la néophobie). La durée optimale des tests doit donc être déterminée par des expériences de « calibration ». En effet, Oswald et al., (2013) ont montré que sur des lignées divergentes par

rapport au caractère audacieux, les différences comportementales ne s'exprimaient plus une fois les individus acclimatés au dispositif expérimental, en l'occurrence un « open field ».

1.4. Les facteurs à prendre en compte

De nombreux facteurs peuvent influencer les réponses comportementales comme nous l'avons détaillé dans le Chapitre 7. Principalement, nous avons démontré que l'hypoxie était un facteur qui pouvait déclencher une prise de risque chez le bar, comme démontré par Killen et al., (2011). En effet, aucun individu n'a pris le risque de s'aventurer dans la zone éclairée sans induction d'hypoxie, ce qui confirme que c'est bien ce facteur externe qui déclenche une réponse. Bien que nous n'ayons pas testé expérimentalement l'effet de la température, il semble que cette dernière influence l'activité individuelle (Biro et al., 2010; Killen et al., 2011b; Frost et al., 2013) et devrait donc être rigoureusement identique lors de test visant à caractériser la personnalité. Il est par ailleurs important de nourrir les individus au moins une heure avant les tests, afin de standardiser les niveaux de faim des individus qui pourraient influencer le caractère audacieux et exploratoire de ces derniers. Enfin, les bars étant très sensibles au stress, il est important de standardiser au maximum la période précédant chaque test individuel, en isolant les individus d'intérêt dans des bassins individuels. Sans cela, le premier individu caractérisé aura été prélevé après un coup d'épuisette, le second après deux coups d'épuisette et ainsi de suite, résultant en des différences notables dans les conditions précédents la mesure. Il faut par ailleurs veiller à déterminer s'il existe des corrélations entre les ordres de caractérisation et les niveaux d'audace, d'exploration et tout autres traits déterminés afin de valider l'absence d'effet de l'ordre de caractérisation. Certains auteurs recommandent de caractériser les individus toujours dans le même ordre, alors que d'autres préconisent de les caractériser aléatoirement (Bell et al., 2009).

1.5. Approche en situation de groupe

Afin de compléter l'approche en situation individuelle, dans le Chapitre 2 nous avons choisi de réaliser deux tests comportementaux en situation de groupe : le test de tolérance à l'hypoxie et le test de prise de risque. Ces tests ont été ensuite réutilisés dans les Chapitres 6, 7 et 8. Comme pour les tests en situation individuelle, ces tests se sont avérés être révélateurs de différences comportementales liées à la personnalité des individus. Les comportements observés étaient encore une fois très variables, révélant à nouveau une importante plasticité comportementale chez cette espèce. Certains individus étaient audacieux, d'autres moins, voire pas du tout. Ces deux tests ont permis l'un comme l'autre de mettre en avant différentes capacités d'adaptation physiologique et/ou comportementale chez le bar, tout comme les tests en situation individuelle.

Malgré des différences entre ces deux tests sur lesquelles nous reviendrons, dans les deux cas, les individus audacieux, c'est-à-dire ceux étant passés dans la zone éclairée (et



donc à risque) ou la zone hypoxique, se sont montrés être plus actifs. Les niveaux d'audace (ordre de sortie) étaient positivement corrélés avec l'activité (nombre d'aller-retour entre les zones). Comme évoqué dans la partie introduction, l'audace, appartenant au continuum audace-timidité est le trait de personnalité le plus étudié, et le plus partagé au sein des différents taxons. En effet, le fait d'être audacieux ou non a un impact direct sur la fitness, d'où son importance majeure dans le règne animal.

1.6. Les variables pertinentes pour caractériser la personnalité en situation de groupe chez le bar

La variable la plus pertinente pour discriminer les individus dans le test de tolérance à l'hypoxie est en premier lieu la fuite face à l'hypoxie. Ceci reflète probablement les besoins métaboliques individuels (qui sont je le rappelle liés au syndrome de train de vie, « Pace Of Life Syndrome »), mais d'autres études sont nécessaires pour pouvoir affirmer cela. Nous avons dans ce sens réalisé une expérience en caractérisant les individus par le test de tolérance à l'hypoxie ainsi qu'avec le test de prise de risque, puis sélectionné des individus aux réponses comportementales divergentes afin de caractériser leurs taux métaboliques (moyens, basaux et actifs) sur un sous échantillon (16 par coping style ; proactifs, intermédiaires et réactifs). Les résultats sont à ce stade en cours d'analyse, mais permettront de mieux comprendre les liens entre audace, tolérance à l'hypoxie et métabolisme individuel. Cependant, le fait que les niveaux individuels d'oxygène lors du premier passage soient corrélés aux niveaux d'activité (Chapitre 2) laisse fortement penser que c'est bien le cas. Les autres variables discriminantes sont les niveaux d'activité, représentés par le nombre d'aller retour entre les deux zones et le niveau de tolérance à l'hypoxie, représenté par les taux individuels d'oxygène.

Concernant le test de prise de risque, les dispositifs étant relativement similaires, mis à part l'induction d'hypoxie, la variable représentant l'audace (c'est-à-dire le fait d'être sorti), semble la plus pertinente. Il ne fait aucun doute que les individus passés dans la zone à risque, sans éléments extérieurs déclenchant la réponse (i.e. sans induction d'hypoxie) sont plus audacieux que les autres. Ce test présente l'avantage d'éviter toute ambiguïté quant au type de comportement réellement testé. L'ordre de passage est aussi un bon indicateur du niveau d'audace, mais en raison des importantes capacités d'apprentissage de l'espèce (Chapitre 2), il semblerait que cet indicateur soit surtout représentatif de la capacité de prise de risque lors du premier test. Enfin, le nombre d'aller retour semble être un bon indicateur des niveaux d'activité individuels, probablement lié au métabolisme des individus comme discuté ci-avant. Cependant, comme nous l'avons montré dans le Chapitre 8, l'activité individuelle peut être influencée par les conditions environnementales, voire par des erreurs de mesures et doit donc être analysée avec attention.

Le test de tolérance à l'hypoxie est un bon indicateur à la fois de l'audace (révélée par l'hypoxie chez le bar) du taux de cortisol après un stress, et possiblement du métabolisme

individuel. Ce test, bien qu'efficace chez le bar laisse cependant quelques points à approfondir afin d'éviter toutes ambiguïtés quant au type de coping style mis en avant, mais aussi quant au trait de personnalité réellement caractérisé. En effet, ce test a mené à des résultats inverses chez la truite arc en ciel *Oncorhynchus mykiss*, (Laursen et al., 2011) suggérant que les individus réactifs sortaient dans la zone éclairée pour éviter les interactions sociales avec leurs congénères. Cependant, Damsgard et al., (communication personnelle) ont montré chez le saumon atlantique des résultats similaires à ceux obtenus chez le bar (Chapitre 2) ainsi que chez la daurade (Castanheira et al., 2013b). Enfin, il semblerait que ce test puisse confondre différents facteurs. En effet, le test de tolérance à l'hypoxie a permis de mettre en avant au minimum deux catégories d'individus : les quittant l'hypoxie et les individus restants. Peut être devrions nous dire qui ne détectent pas l'hypoxie ? En effet, cette question reste encore non résolue. Nous savons que les individus se comportent différemment lors de ce test, mais parmi les bars ne fuyant pas l'hypoxie, certains allaient jusqu'à se laisser mourir. En admettant que le fait de passer dans la zone normoxique (représentant un risque) requiert un niveau d'audace important, n'est il pas légitime de penser que ce seuil serait dépassé par le besoin de survivre ? Dès lors, il se pose la question de savoir si tous les individus sont capables de détecter l'hypoxie. D'autres recherches sont nécessaires pour répondre à cette question, mais les résultats obtenus dans le chapitre 8 montrent que les traits mis en avant par le test de tolérance à l'hypoxie sont en partie de nature différente de ceux mis en avant par le test de prise de risque. Je recommande pour ces raisons le test de prise de risque en situation de groupe pour évaluer la personnalité des bars, bien que plus long (24h, contre 1 à 2 h pour le test de tolérance à l'hypoxie), ce test évalue en premier lieu l'audace (trait le plus représenté dans les différents taxons), et a été utilisé avec succès chez la carpe commune *Cyprinus carpio* (Huntingford et al., 2010), la daurade royale (Castanheira et al., 2013b) et le bar (Millot et al., 2009 ; Ferrari et al., soumis – Chapitre 2 & Chapitre 8) en donnant des résultats similaires entre ces espèces. De plus, ce test a été utilisé avec succès pour caractériser plus de 1500 individus en « common garden » et s'est avéré pouvoir révéler une base génétique héritable et donc sélectionnable, comme démontré dans le Chapitre 8.

Ces tests en situation de groupe présentent deux avantages certains : ils permettent de réduire le stress dû à l'isolation des individus, de se rapprocher davantage des conditions rencontrées en élevage, et permettent aussi de caractériser un nombre relativement important d'individus, étape nécessaire à toute évaluation de paramètres génétiques. Enfin, ces tests en groupes étaient aussi les plus cohérents dans le temps, mais nous reviendrons sur ce point.

1.7. Les facteurs à prendre en compte

Comme pour les tests en situation individuelle, les facteurs à prendre en compte sont ceux pouvant impacter les réponses comportementales, à savoir la température et l'oxygène, les niveaux d'appétit pouvant influencer l'audace, mais aussi la standardisation



des conditions précèdent le test. Pour le test de tolérance à l'hypoxie, il est indispensable d'utiliser des antennes détectrices de PIT tag, afin de ne pas perturber les individus lors de leur passage dans la zone normoxique. Les bars étant capables de mémoriser les événements jusqu'à un mois et demi d'intervalle comme démontré par (Millot et al., 2009b), il faut aussi faire attention aux ordres de passages individuels qui peuvent varier entre les sessions. Enfin, comme démontré dans les Chapitres 2 et 7, l'âge des individus et leurs expériences passées ont une nette influence sur les comportements.

1.8. Conclusions

Nos travaux ont donc permis de mettre en avant un large éventail de comportements et de montrer que pour chaque comportement étudié, la plasticité comportementale inter individuelle était importante. Ceci reflète d'importantes capacités d'adaptation chez cette espèce, permettant aux individus de faire face différemment à de multiples situations ce qui d'une part, favorise la survie et donc la fitness, et d'autre part offre la possibilité aux individus d'être mieux adaptés à certaines situations. Par exemple, les individus explorateurs vont pouvoir aller coloniser des niches écologiques plus lointaines, ou bien aller chercher plus facilement de la nourriture ailleurs lorsque celle ci sera moins abondante par exemple. Ces différences inter individuelles peuvent avoir une importance non négligeable lors d'éventuels programmes de repeuplement par exemple, afin de relâcher des individus qui de par leur diversité auront de bonnes capacités d'adaptation au milieu considéré (par exemple, dans un endroit avec beaucoup de prédation, les individus proactifs subiraient plus de mortalité en raison de leur audace les exposant plus aux prédateurs). En aquaculture, en raison de l'importante variabilité génétique existante couplée à l'impact rapide de la domestication, cela permettrait de sélectionner certaines réponses comportementales d'intérêt, comme par exemple la prédisposition à se réalimenter rapidement après un stress. Ceci permettrait une amélioration de la croissance dans les périodes suivant des tris, des transports ou des manipulations. En revanche, et en particulier pour le bar, la majorité des tests individuels ne sont pas très pertinents. Tout d'abord, en raison de la grande sensibilité du bar face au stress, mais aussi en raison de son grégairisme prononcé. Par ailleurs, le bar est toujours élevé en groupe, c'est pourquoi les tests en groupe semblent être bien plus adaptés. En effet, les coefficients de plasticité relative (cf. Chapitre 2) ainsi que les coefficients de variation se sont révélés être moins importants en situation de groupe. Pour finir, dans l'optique d'incorporer des traits comportementaux dans d'éventuels programmes de sélection, la caractérisation d'un nombre important d'individus est nécessaire dès le stade juvénile, et les tests individuels, bien qu'efficaces, sont en ce sens inadaptés car trop long à mettre en œuvre. Ils pourraient cependant être réservés à la caractérisation d'adultes reproducteurs afin de sélectionner des géniteurs aux comportements divergents et ainsi permettre de comparer les phénotypes de la descendance. Par ailleurs, l'approche individuelle présente tout de même un intérêt particulier pour la recherche fondamentale et l'analyse précise des mécanismes : elle permet d'établir des liens plus précis entre comportement, expression de gènes et plasticité neuronale, mais aussi avec les réponses

neurophysiologiques telles que les quantités de catécholamines sécrétées suite à des situations stressantes ou non stressantes par exemple. En effet, nous reviendrons sur ce point, mais le test en groupe de tolérance à l'hypoxie n'a pas permis d'établir de liens clairs entre les coping styles et les taux de catécholamines avec les protocoles employés dans le chapitre 3.

Une des particularités de notre étude est que sur chaque population testée, différents traits de personnalité ont été étudiés en situation individuelle ainsi qu'en situation de groupe alors que la majorité des études sur la personnalité ne s'intéressent qu'à deux voire trois traits de personnalité, et peu d'études ont caractérisé la personnalité animale en groupe. Dans le Chapitre 5, nous avons mis en avant l'utilité de coupler des études de personnalité à des conditions expérimentales d'auto-alimentation. L'utilisation de *self-feeder* permet en effet d'aborder les comportements individuels d'une manière différente, dans un autre registre comportemental (fonction d'alimentation), en y incluant les coping styles. L'évolution des techniques, en particulier en terme d'analyse vidéo assistée par ordinateur permettra aussi des suivis de plusieurs individus en même temps, essentiels pour les individus sociaux, mais aussi pour mieux comprendre les interactions entre les individus.

2. Variabilité des traits de personnalité

La variabilité est un phénomène ubiquiste dans la nature, c'est un trait fondamental dans les systèmes complexes. Comme nous l'avons évoqué précédemment, tous les comportements observés se sont avérés être très variables entre les individus (variation inter-individuelle). Les coefficients de variation observés allaient 12.9 % à 400 %. Dans toutes les populations testées, nous avons observé une proportion d'environ 20 % d'individus proactifs contre 80 % de réactifs (+ intermédiaires). Ceci peut s'expliquer par le caractère de domestication très récent de cette espèce qui pourrait favoriser l'expression de comportements très proches de ceux observés en milieu naturel. En effet, le milieu naturel étant très hétérogène, une gamme d'expression comportementale diversifiée est nécessaire afin d'augmenter la fitness des individus selon les différents types de situations rencontrées. C'est cette variabilité qui est à la base de l'adaptation des individus.

Comme nous l'avons démontré dans le Chapitre 2, les individus montraient par ailleurs une grande variabilité intra individuelle, qui plus est, elle était contexte spécifique. Certains individus étaient plus plastiques dans un contexte et moins dans l'autre, et inversement.

Ces différences pourraient être dues non seulement à des capacités d'apprentissage différentes, mais aussi à la manière dont ils appréhendent leur environnement. Partant du principe que l'expression des gènes, les réponses physiologiques mais aussi le fonctionnement du cerveau diffèrent selon les individus, il est légitime de penser que chaque situation impacte différemment chaque individu. Cette variabilité ouvre la possibilité



à de nombreux choix de sélection, sous réserve que les traits d'intérêt soient héréditaires. Il semblerait même que la plasticité phénotypique soit elle-même héréditaire comme cela a été démontré chez la drosophile (Ayroles et al., 2014), c'est-à-dire qu'elle serait sous contrôle génétique. La question qui se pose est donc : que faut-il sélectionner ? Des individus peu plastiques très adaptés à un environnement très stable, avec des performances très importantes tant que toutes les conditions sont réunies (proactifs), sachant qu'à la moindre perturbation ces derniers risquent d'être très affectés ; ou bien des individus très plastiques, pouvant s'adapter à des variations de leur environnement, qui seront probablement moins performants, mais plus stables en cas de variation du milieu ? Autrement dit, dans des environnements de production très contrôlés, avec d'importantes densités, les individus proactifs auraient de meilleures performances (aquaculture intensive) alors que dans des milieux fluctuants, les intermédiaires et les réactifs seraient mieux adaptés (élevages extensifs), ce qui serait un trait intéressant pour des éleveurs qui auraient pas ou peu de moyens de contrôlabilité, comme c'est le cas dans les pays émergents.

Le concept de variabilité intra-individuelle (IIV en anglais) est relativement récent en écologie comportementale et évolutive (Dingemanse et al., 2010b; Stamps et al., 2012) alors qu'il est régulièrement utilisé en génétique quantitative. Ce concept IIV permet d'avoir une approche différente sur le concept de plasticité, en particulier dans les études sur la personnalité mais pas seulement. En effet, la plupart des études qui s'intéressent à la cohérence dans le temps des traits de personnalité utilisent des approches simples telles que des corrélations ou des modèles linéaires à effets fixes (ne prenant pas en compte l'erreur résiduelle qui varie selon les individus), évaluant ainsi seulement la plasticité inter-individuelle. Ceci ne donne une information qu'au niveau de la population, et non au niveau de l'individu. Il semble bien plus approprié, lorsque l'on s'intéresse aux caractéristiques individuelles, de s'intéresser non seulement à la variation inter-individuelle, mais surtout à la variation intra-individuelle, qui elle, donne de l'information sur comment se comporte et réagit l'individu en question par rapport à la population. Assendorf (1990) a proposé en ce sens de calculer la « Statistique de Stabilité Individuelle » (cf Dingemanse et al., 2010b) pour les méthodes de calcul), suivi par la mesure du « Coefficient de Plasticité Relative » proposé par Réale and Dingemanse, (2010), et qui donne un index standardisé de la variation d'un trait donné pour un individu d'intérêt au sein de sa population. C'est ce dernier index que nous avons utilisé dans le Chapitre 2, mais nous n'avons cependant pas observé de lien entre personnalité et plasticité.

De récentes études montrent l'existence d'une variation génétique dans les degrés de plasticité individuels (Pigliucci, 2005). Il est donc possible que la sélection naturelle agisse sur la variation de la plasticité intra-individuelle, mais peu d'études se sont intéressées à ce sujet pour le moment (Weis and Gorman, 1990; Pigliucci, 2005; Nussey et al., 2007). De récents modèles théoriques démontrent que personnalité et plasticité individuelle peuvent être liées (revue dans Dingemanse et al., 2010b). Seules ces approches permettront une

bonne compréhension des liens spécifiques entre type de personnalité et plasticité individuelle (Koolhaas et al., 1999; Réale and Dingemanse, 2010).

3. La cohérence dans le temps et entre les situations

Toutes les définitions des termes personnalité, syndrome comportementaux, etc., s'accordent à dire que les comportements doivent être cohérents dans le temps. Cependant, aucune étude n'a définie de durée « optimale » pendant laquelle cette cohérence devait être observée, et très peu d'études se sont penchées sur la répétabilité des traits de personnalité sur le court et le long terme (David et al., 2012). Différents auteurs ont montré qu'il existait plusieurs facteurs pouvant affecter cette cohérence dans le temps comme nous l'avons discuté dans le Chapitre 7. L'intervalle de temps entre deux répétitions d'un test joue un rôle majeur car plus les répétitions sont éloignées dans le temps, plus la cohérence diminue. Comme expliqué dans le Chapitre 2, nous n'avons pas observé de cohérence dans le temps pour les tests réalisés en situation individuelle, ceci pour des raisons liées à l'apprentissage ou à l'âge des individus par exemple. Pour autant, il ne fait aucun doute que ces tests aient permis de mettre en avant des personnalités contrastées. Cette absence de cohérence dans le temps pour les tests individuels est probablement due au stress de l'isolation, mais aussi au protocole que nous avons choisi d'appliquer, à savoir tester différents intervalles de temps (entre autres). En revanche, les tests en situation de groupe étaient bien plus répétables. Les variables liées à l'activité et aux niveaux de tolérance à l'hypoxie (et donc probablement au métabolisme) étaient les plus répétables, tout comme les variables liées à l'audace des individus (le fait d'être sorti dans une zone à risque). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le métabolisme étant relativement constant, les comportements liés à ce dernier le seraient aussi (Biro and Stamps, 2010). Une autre explication serait que les tests en groupe semblent être beaucoup moins aversifs pour le bar, révélant des comportements moins perturbés et donc plus proches du comportement « normal » des individus. Enfin, l'audace, bien qu'affectée par l'expérience individuelle, semble aussi être un des traits de personnalité les plus stables. Les deux tests en groupe (hypoxie et prise de risque) ont été répétés sur différentes populations et se sont montrés répétables à chaque fois.

Nous n'avons pas observé de cohérence des traits de personnalité selon les contextes (syndrome comportemental). Cependant, dans la plupart des études sur les syndromes comportementaux, des tests sont réalisés dans différents contextes, mais sur quelques jours seulement : contexte 1 le jour 1, contexte 2 le jour 2, etc. Observer des corrélations entre comportements sur une durée si faible est-il pertinent biologiquement parlant ? Si les comportements sont corrélés sur un intervalle de temps très court, mais qu'ils ne le sont plus dès que le temps entre les répétitions s'allonge, peut-on réellement parler de syndrome comportemental ? Il serait judicieux de définir des fenêtres de temps biologiquement pertinentes, comme par exemple des stades de vie : juvénile, mature, période de



reproduction, puis analyser les corrélations intra-stades et inter-stades pour plus de pertinence.

Dans notre étude, plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette absence de liens entre les traits de personnalité. Cela pourrait être dû à une stratégie propre à l'espèce. Le bar étant une espèce grégaire au stade juvénile, et probablement coopérative, au moins par rapport à l'acquisition des ressources alimentaires comme nous l'avons observé dans le Chapitre 5, il est probable que ce comportement de coopération ou de spécialisation des rôles des individus au sein du groupe soit dû au fait qu'il pourrait exister des individus leader pour chaque type de situation : par exemple, leader exploratoire, leader alimentaire, ou encore leader pour les situations à risques. Il semblerait que les espèces grégaires aient des stratégies comportementales différentes de celles des espèces solitaires. En effet, les espèces solitaires seraient plutôt compétitives, territoriales et agressives en comparaison aux espèces grégaires qui seraient elles plus coopératives et moins agressives. D'autres études en situation de groupe seraient intéressantes à réaliser afin de valider cette hypothèse.

L'hypothèse la plus pertinente quant au fait que nous n'ayons pas observé de syndrome comportemental est que cette absence de corrélation entre les différents axes de la personnalité serait due aux caractéristiques de l'environnement d'élevage. Il est en effet important de noter que certaines études ont montré que les corrélations intra-populationnelles entre traits de personnalité (ou syndromes comportementaux) pouvaient être dépendantes de certains facteurs écologiques, comme la prédation ([Dingemanse et al. 2007](#)), et être elles-mêmes les objets de la sélection naturelle ([Bell & Sih 2007](#)). Ces faits pourraient ainsi limiter la mise en évidence d'un syndrome comportemental au sein d'une population captive issue de conditions d'élevage artificielles. Cependant, à défaut d'avoir observé des corrélations entre différents comportements, nous avons toutefois observé que les individus caractérisés comme proactifs par les tests de tolérance à l'hypoxie avaient une activité supérieure (en terme de distance parcourue) dans le test de sociabilité et dans le test en zone ouverte « open field », confortant l'hypothèse selon laquelle le métabolisme individuel est un trait phénotypique important sous-jacent à la personnalité chez le bar (article V – Chapitre 6).

4. Liens entre comportement et physiologie

Il est généralement admis que chez les téléostéens lorsqu'ils sont exposés à des challenges environnementaux, la variation individuelle des comportements et de la physiologie correspond à l'existence des coping styles ([Martins et al., 2011c](#)). Dans notre étude, le lien entre réponses physiologiques et comportementales a clairement été établi chez le bar, démontrant l'existence de coping styles chez cette espèce. Dans le Chapitre 2 nous avons observé que les taux de cortisol plasmatiques après le test de contrainte/contention étaient corrélés négativement avec le nombre de tentatives de fuite

par individu. Autrement dit, les individus cherchant à fuir activement le stimulus aversif avaient des taux de cortisol plasmatiques inférieurs à ceux individus passifs. Ces taux étaient par ailleurs moins importants pour les individus intolérants à l'hypoxie que pour les autres. Dans le Chapitre 4, le coping style des individus a été caractérisé par le test de tolérance à l'hypoxie. Un stress de confinement a été appliqué 127 jours plus tard sur ces mêmes individus puis les taux de cortisol plasmatiques ont été analysés suite à ce stress. Les taux observés étaient différents selon les catégories déterminées 127 jours plus tôt, les individus proactifs avaient des taux de cortisol moins important que les individus réactifs 3 heures après le confinement. Ces résultats confirment d'une part l'existence de coping styles chez le bar, et d'autre part que les réponses physiologiques semblent être relativement stables dans le temps, alors que les comportements peuvent varier en raison des facteurs environnementaux comme discuté dans le Chapitre 7, mais aussi par Ruiz-Gomez et al., (2008).

Le test de tolérance à l'hypoxie semble donc être un bon indicateur des réponses physiologiques individuelles. De nouvelles recherches doivent être réalisées sur de plus importants effectifs afin de pouvoir confirmer nos observations, mais ce procédé pourrait permettre de trier rapidement un nombre important d'individus aux réponses physiologiques divergentes, ce qui représenterait un outil intéressant pour démarrer un programme de sélection visant à aboutir à des populations aux réponses physiologiques opposées (en particulier en ce qui concerne le taux de cortisol après un stress aigu). Il reste à valider si ce même test sera discriminant pour les résultats des taux de monoamines ainsi que pour l'expression différentiels de certains gènes (Chap. 4 en cours de finalisation).

Par ailleurs, il est intéressant d'observer que les taux individuels de cortisol après le test hypoxique (stress aigu) étaient négativement corrélés avec les taux de cortisol observés sur les mêmes individus après une semaine d'isolation (stress chronique). Cela semblerait indiquer que les individus proactifs seraient affectés différemment par un stress ponctuel que par un stress chronique (moindre concentration en cortisol plasmatique que les réactifs). Les individus réactifs qui à l'inverse présentaient une forte augmentation de leurs taux de cortisol après un stress ponctuel ont eux ensuite eu des taux de cortisol inférieurs lorsque ce stress s'est prolongé. La cinétique de leurs réponses physiologiques semble donc différer. De plus amples recherches sont nécessaires pour approfondir ce résultat, mais cela pourrait avoir d'importantes conséquences quant à la vision actuelle du lien entre coping style, réponse comportementale au stress, cortisol et bien-être. En effet, le taux de cortisol plasmatique est à ce jour un des seuls indicateurs physiologiques de l'effet du stress, mais la plupart des études sur le sujet ne se sont concentrées que sur l'impact d'un stress aigu. Très peu d'études se sont penchées sur les liens entre coping style et réponses physiologiques après un stress chronique.

Koolhaas et al., (2011) et Ellis et al., (2012) mettent en garde quant à l'utilisation seule du cortisol comme indicateur de bien-être. Il faut en effet garder à l'esprit que



l'augmentation du taux de cortisol est un phénomène adaptatif et nécessaire aux organismes. D'un point de vue évolutif, il est légitime de penser que dans des environnements à risques, les individus répondant par de faibles taux de cortisol après un stress possèderaient un avantage sélectif par rapport aux autres. En effet, les individus confrontés régulièrement à des situations à risques pourraient du fait de l'augmentation chronique de leurs taux de cortisol plasmatique être affectés physiologiquement (surcharge allostatique). L'évolution aurait donc favorisé des réponses moins importantes (en termes de cortisol), tout en favorisant une activation supérieure de l'axe sympathique, permettant une réponse de fuite très active basée sur l'adrénaline. Cela ne veut pas dire pour autant que la perception de la situation de stress est différente selon les coping styles, et donc qu'un niveau de cortisol moins important est synonyme de bien-être. La question primordiale est donc de savoir et de comprendre comment l'individu perçoit la situation. Le stress devrait donc être considéré comme une perception cognitive de l'incontrôlabilité et/ou de l'imprévisibilité (Koolhaas et al., 2011).

Les termes contrôlabilité et prévisibilité sont essentiels dans la définition d'un « stresser ». Ils ont été introduits par Weiss, (1972) dans les années 1970. Cet auteur a démontré que ce n'est pas la nature physique du stimulus aversif qui induit des conséquences mal adaptées entraînant des pathologies, mais plutôt le degré avec lequel le stimulus peut être prédit et contrôlé⁴. Une situation non prévisible peut être caractérisée par une absence d'anticipation (d'où le fait que les réponses physiologiques comme l'induction de cortisol diminuent lorsque les stress deviennent chroniques, phénomène communément appelé « habituation »). Lorsque les réponses physiologiques et comportementales parviennent à rétablir l'homéostasie, le stress devient alors contrôlable, et représente une adaptation de l'animal face à la situation. Le stimulus n'est donc plus perçu par l'animal comme un stresser. Selon Koolhaas et al., (2011), le terme stresser devrait donc être réservé à des situations seulement incontrôlables et imprévisibles menaçant la vie de l'individu. Les autres situations relèvent du domaine du support physiologique du comportement. Tant que le stress ne dure pas et ne menace pas la vie de l'individu, il devient de fait contrôlable et le terme stress décrit alors une situation qui entraîne une réponse physiologique et comportementale permettant de rétablir l'équilibre, mais pas nécessairement une situation de mal être. Par ailleurs, ces mêmes auteurs ont montré que des situations considérées comme non stressantes telles qu'un comportement sexuel ou un stimulus associé à une récompense, entraînaient chez le rat des réponses de l'axe HPA et du système sympathique adreno-médullaire de magnitudes comparables à celles observées après des événements stressants tel qu'une défaite sociale. Les réponses physiologiques semblent donc être le reflet direct de l'activité comportementale et des requis métaboliques pour l'activation des tissus. Ces réponses sont donc selon ces auteurs le pré-requis à n'importe quel comportement et ne devraient pas toutes être appelées

⁴Le terme contrôlabilité est souvent considéré comme binaire (contrôlable/incontrôlable) alors qu'en réalité, c'est une variable continue. Il est donc important de considérer la gradation de l'incontrôlabilité et de l'imprévisibilité.

« stress ». Il est probable qu'une situation perçue comme stressante par un individu puisse ne pas nécessairement l'être pour un autre.

Les individus de coping styles opposés diffèrent aussi dans leurs capacités d'adaptation face aux changements des conditions environnementales. Par exemple, chez la souris (Benus et al., 1988) ont montré que les différences individuelles dans l'agressivité (comportement proactif) étaient prédictives des capacités d'adaptation à des facteurs externes : l'adaptation à une nouvelle photopériode a été deux fois plus longue chez les souris agressives (proactives). Par ailleurs, les rats agressifs ne changeaient pas de comportement selon le contexte social alors que les non-agressifs le faisaient. Ceci conforte l'hypothèse selon laquelle les types de stress sont perçus de manière différente par les individus de l'un ou l'autre coping style, d'où l'importance de définir des catégories ou des types de stress. En effet, des stress au sens anthropomorphique du terme ne sont peut-être pas les stress les plus difficiles à surmonter physiologiquement en comparaison avec des stress tels que des mauvaises conditions physico-chimiques de l'eau ou des changements de la photopériode par exemple.

Des stress d'intensité moyenne ou faible, mais subis de manière chronique pourraient être plus aversifs (affecter plus le bien-être sur le long terme) que des stress épars et ponctuels. La question qu'il faut se poser est donc : qu'est ce que le stress en aquaculture ? Est-il perçu par les individus comme un stress chronique, ou comme un stress ponctuel ? On peut supposer que les individus proactifs seraient mieux adaptés à des stress ponctuels sur une courte durée (réponse active permettant la fuite et le contrôle de la situation), alors que les individus réactifs seraient peut-être mieux adaptés à des stress chroniques en raison de leurs stratégies plus économes en énergie. La plupart des tests de coping styles sont réalisés à ce jour seulement une, voire deux fois sur les mêmes individus. Il serait intéressant de tester les individus en répétant le même stress afin de voir comment ces derniers sont capables de s'adapter au niveau comportemental et physiologique. De ce fait, il est important de bien analyser les différents types de stress rencontrés en aquaculture, car ceux-ci pourraient être perçus différemment de ceux réalisés en situations expérimentales.

Il est cependant établi que le cortisol, bien que sécrété en situation non stressante, l'est aussi toujours en situation stressante. Le cortisol reste donc pour le moment un des seuls indicateurs physiologiques du stress « laissant le bénéfice du doute » aux individus, comme le soulignent Ellis et al., (2012). Le manque de cohérence entre les études sur les niveaux basaux de cortisol observés intra-espèce, pouvant varier du simple au double montrent qu'une seule valeur de mesure ne peut refléter le niveau de stress d'un téléostéen (Ellis et al., 2012). Ces auteurs mettent aussi en garde contre l'utilisation des seules approches moléculaires. Il est absolument nécessaire de réaliser des études comportementales et physiologiques de manière concomitante afin de mieux comprendre comment les individus sont affectés par le stress. Il serait à cette occasion intéressant



d'étudier le comportement dans des situations « de stress positif » (comme des stimuli associés à des récompenses ou des comportements sexuel par exemple) afin de pouvoir comparer avec les comportements observés dans des situations « de stress négatif ».

5. Héritabilité du coping style

Par notre étude, nous avons pu mettre en évidence une base génétique non négligeable concernant l'audace chez le bar, qui présentait une héritabilité de 0.42, soit du même ordre de grandeur que celle du poids (0.34-0.49), de la longueur (0.48-0.61) ou du taux de croissance spécifique (0.15-0.56). Toutefois, en ce qui concerne l'audace liée à la tolérance à l'hypoxie, l'héritabilité est apparue moins importante (0.23). Ces résultats prometteurs ont été rendus possibles grâce au développement à grande échelle de deux tests de personnalité réalisés en situation de groupe, à savoir le test de prise de risque et le test de tolérance à l'hypoxie. Différentes études avaient déjà démontré une base génétique du caractère audacieux chez des téléostéens, mais mis à part chez les salmonidés, la plupart de ces études concernent des espèces modèles. Les valeurs d'héritabilité observées signifient que certains traits de personnalité (au moins l'audace) sont potentiellement sélectionnables et que la personnalité et les coping styles pourraient être utilisés comme un nouvel outil dans les programmes de sélection.

Nous avons observé par ailleurs des liens entre des caractères phénotypiques (tels que la croissance et le poids vif) et les coping style déterminés et leurs traits de personnalité associés (activité et audace principalement). Comme discuté dans le Chapitre 8, (Fevolden et al., 1993a; Koolhaas, 2008) ont démontré que les individus aux coping styles divergents diffèrent dans leur sensibilité aux pathogènes. Quelques études s'attèlent à la sélection pour la résistance à certaines maladies, mais ce type de sélection est difficile à mettre en œuvre et ne permet de sélectionner que la résistance à un seul type de maladie (comme la résistance au nodavirus par exemple). Sélectionner les individus selon leurs coping styles plutôt que sur des caractères immunitaires spécifiques pourrait améliorer les mécanismes de défense immunitaire sur un spectre plus large, permettant ainsi une amélioration globale de la résistance à certaines maladies. Par ailleurs, MacKenzie et al., (2009) ont montré des divergences dans l'expression des gènes régulant les réponses inflammatoires, suggérant des différences fondamentales dans la régulation des cytokines chez des individus de coping styles différents. C'est le cas en particulier, du facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF α) et de l'interleukine 1 – bêta (IL1 β), principales cytokines impliquées dans le développement de l'inflammation chez les téléostéens. Cela pourrait permettre une amélioration des réponses inflammatoires chez les téléostéens d'élevage. Enfin, les individus proactif ayant un de train de vie « rapide » ont probablement des besoins nutritionnels supérieurs en raison de leur métabolisme élevé. Il serait intéressant d'approfondir cette question, qui pourrait aboutir à créer des types d'aliments adaptés au coping style des individus en cas de sélection sur ces stratégies comportementales.

Les corrélations phénotypiques quasi nulles observées entre poids et activité dans les deux tests réalisés (positives avec le test de prise de risque et négatives avec le test de tolérance à l'hypoxie) semblent indiquer que les individus audacieux lors du test de prise de risque ont un potentiel de croissance supérieur (bien qu'ils soient plus petits), alors que les individus audacieux dans le test de tolérance à l'hypoxie fait ressortir les individus avec un potentiel de croissance plus faible. Nous avons par ailleurs observé sur une population non sélectionnée que les individus proactifs avaient une croissance et un poids inférieur aux individus réactifs (Chapitre 8). Ces résultats sont cohérents avec ceux de (Milot, 2008) qui a observé que selon le niveau de sélection une différence apparaissait dans les liens entre les phénotypes de prise de risque et la croissance (Figure 2).

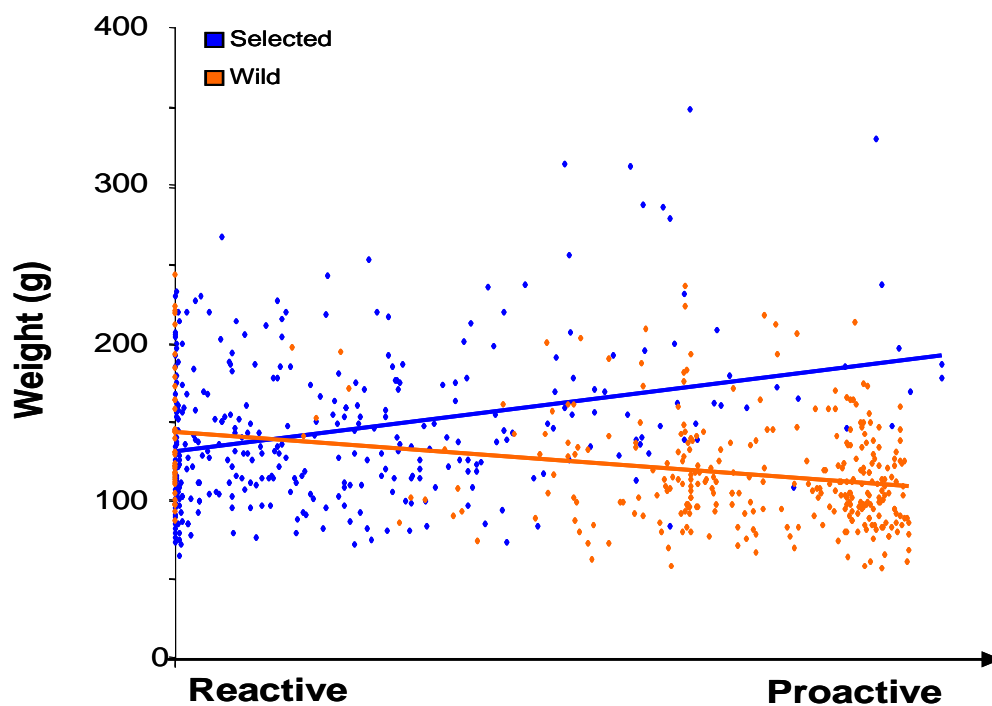


Figure 2 : Relation entre poids et coping style chez deux populations de bar. « wild » : bars sauvage issus d'une génération en élevage et « selected » : bars issus d'une seconde génération de sélection sur la croissance. Données issues de Milot (2008) et Milot et al. (2009b).

Tout comme nous, cette étude avait mis en évidence que dans une population non sélectionnée, les individus réactifs ont des poids supérieurs aux proactifs alors que l'inverse est observé dans les populations sélectionnées pour la croissance. Ces résultats vont dans le sens de la littérature, tout du moins en ce qui concerne l'audace déterminée par le test de prise de risque. En effet, de nombreuses études montrent que la sélection pour la croissance co-sélectionne des individus audacieux et proactifs (Huntingford, 2004; Huntingford et al., 2006).

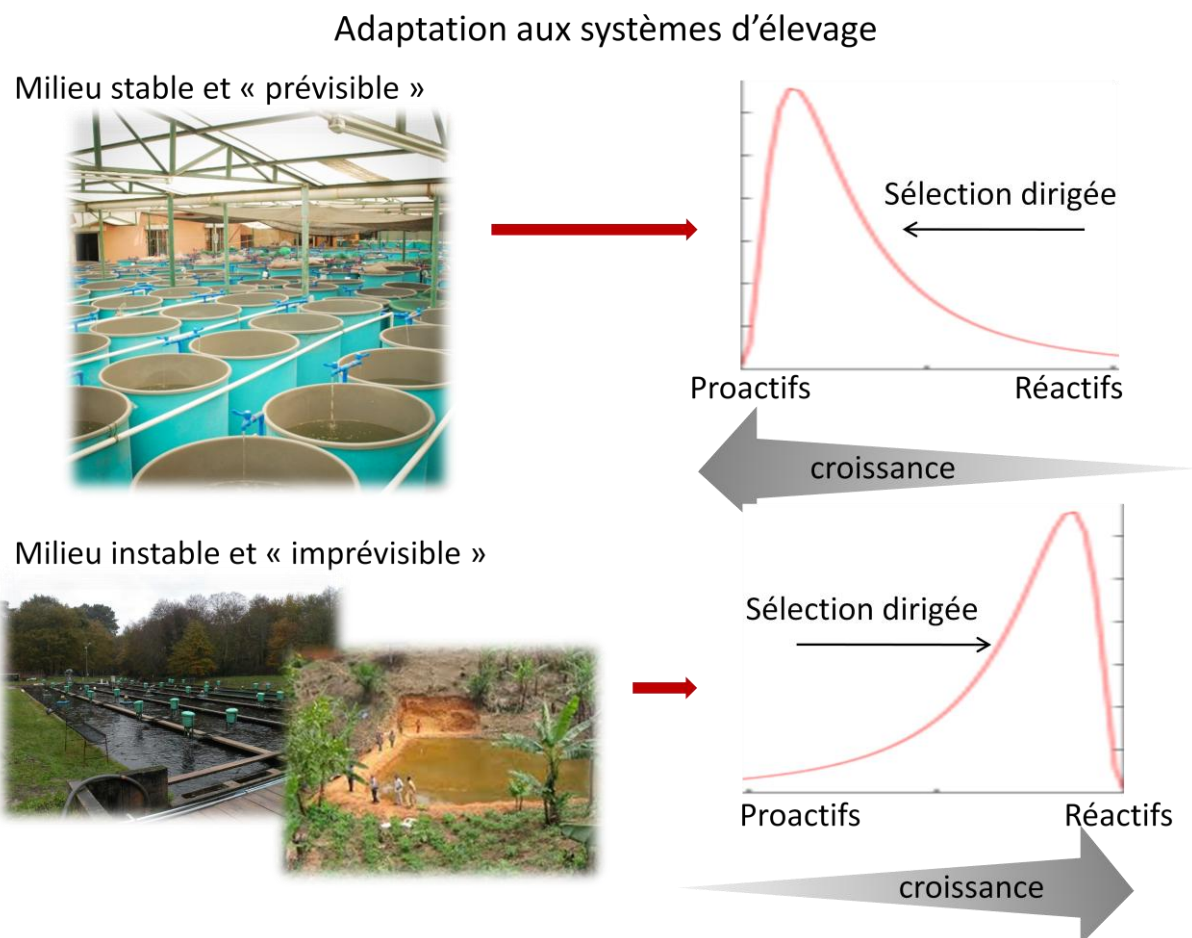


A ce jour, les programmes de sélection chez les téléostéens se focalisent essentiellement sur la croissance et les caractères de production (rendement du filet, qualité de la chair, maturité tardive, etc.). Chez certaines espèces, les individus ayant une croissance rapide appartiennent souvent à la catégorie proactive, or il est reconnu que les individus proactifs tendent à être plus agressifs que les individus réactifs (Øverli *et al.*, 2004b; Castanheira *et al.* 2013a). Nous n'avons pas observé d'agressivité entre conspécifiques lors du test d'interaction dyadique chez le bar, tout comme Di Poi (2008). Il est néanmoins difficile d'observer le comportement naturel de cette espèce ; en effet, le stress dû à la manipulation et à l'isolement juste avant le test d'interaction était vraisemblablement trop perturbant et a peut-être pu inhiber tout comportement agressif. Il serait intéressant de filmer constamment les individus dans leurs bassins d'élevage (i.e. en groupe) afin d'analyser si ce type de comportement peut être observé autour des dispositifs d'auto-alimentation, mais aussi afin de déterminer s'il existe une hiérarchie ou un système coopératif (producteur-chapardeur plus probable) chez cette espèce, qui pourrait être liée à la personnalité des individus. En effet, si la sélection pour la croissance chez le bar augmente la fréquence de comportements agressifs, il serait possible par des observations visuelles liées à des études génétiques, de sélectionner des individus au fort potentiel de croissance tout en sélectionnant des faibles niveaux d'agressivité. Cela permettrait de réduire les blessures et d'augmenter ainsi le bien-être. En effet, ces blessures peuvent réduire la valeur marchande, la croissance, mais aussi augmenter la vulnérabilité face aux maladies.

6. Synthèse

Il existe une grande variété des environnements d'élevage et des niveaux de contrôle des paramètres environnementaux. Il en est de même pour les environnements naturels, avec par exemple des milieux stables et prévisibles, et d'autres instables et imprévisibles.

Les différents travaux réalisés au cours de cette thèse permettent une meilleure compréhension de l'adaptation des individus face à leurs environnements et en particulier face aux différents systèmes d'élevage. Le schéma suivant présente les interactions entre la sélection pour la croissance et le type comportemental co-sélectionné selon le type d'environnement :



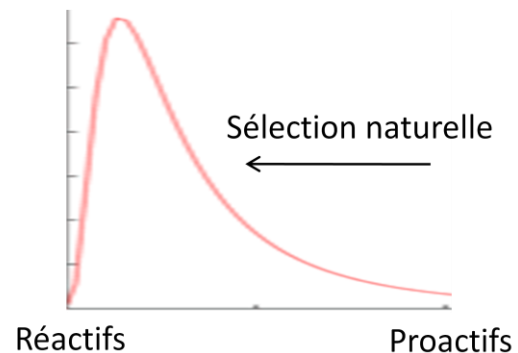
Comme nous l'avons vu au cours de ces travaux, dans des environnements d'élevage avec des niveaux de contrôle importants, lorsqu'une sélection est appliquée sur la croissance, cela a pour conséquence, entre autres, une tendance à co-sélectionner des individus plutôt de type proactif. En effet, un approvisionnement constant en nourriture, associé à une température optimale et à l'absence de prédation est favorable à ce profil comportemental. C'est ce qui est observé chez différentes espèces appartenant aux salmonidés, mais aussi chez le bar.



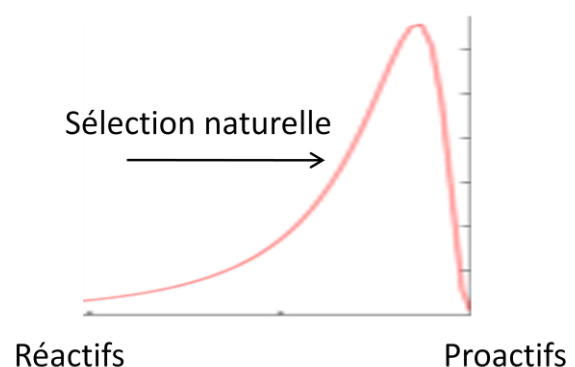
Ces travaux permettent aussi une meilleure compréhension des liens entre sélection naturelle et stratégie comportementales. Par exemple, dans des environnements soumis à de fortes pressions de prédation, les individus proactifs auront plus tendance à subir la prédation, ce qui aura pour effet une tendance à sélectionner davantage d'individus de type réactifs, plus « prudents ». A l'inverse, dans des environnements soumis à de faibles pressions de prédation, les individus proactifs auront tendance à être favorisés en raison de leur prise de risque et de leur exploration supérieure, mais aussi de leurs tendances à gagner les combats, ce qui permettra une efficacité supérieure dans l'acquisition de nourriture.

Compréhension de la variété des profils comportementaux

Forte pression de prédation



Faible pression de prédation

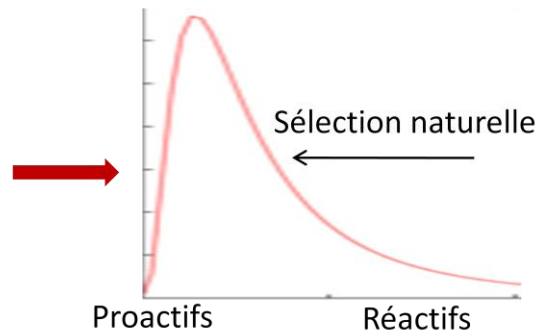


Ceci permet de mieux comprendre pourquoi il existe différentes stratégies comportementales qui se maintiennent au cours de l'évolution, au lieu de converger vers une stratégie « optimale » en toutes situations, comme pourrait le laisser supposer la théorie de l'évolution.

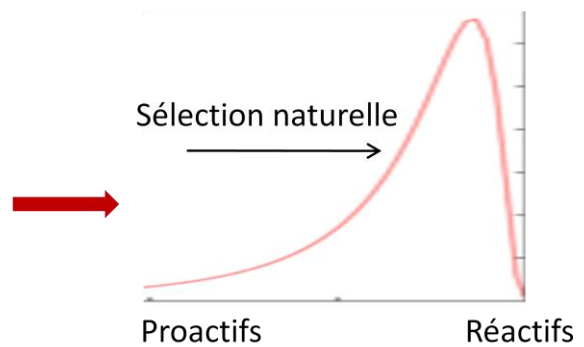
Il en est de même pour le rôle de la personnalité et de la variabilité comportementale interindividuelle dans l'utilisation des niches écologiques.

Utilisation des niches écologiques

Milieu sable et « prévisible »



Milieu instable et « imprévisible »



PERSPECTIVES

Il est reconnu que les individus proactifs ont tendance à développer des routines comportementales (Ruiz-Gomez *et al.* 2008, 2011; Basic *et al.* 2012; Frost *et al.* 2007). Cette caractéristique pourrait être un avantage dans des conditions stables comme dans des environnements d'aquaculture intensives où tous les paramètres sont contrôlés, mais ils seraient moins adaptés dans des systèmes d'aquaculture extensive ou semi extensive. Connaissant l'existence des coping styles et sachant que les individus de ces catégories appréhendent leur environnement différemment, il serait intéressant de créer des systèmes de production adaptés aux coping styles des individus.

Les études multidisciplinaires telles que celle du Chapitre 4 liant comportement, physiologie et expression de gènes, ou encore celle du Chapitre 8 liant génétique et comportement, sont des design expérimentaux très puissants permettant de mieux comprendre l'interaction entre ces différents traits. Dans un avenir proche, je pense que seules ces études multidisciplinaires permettront de grands pas dans la compréhension de la personnalité, des coping styles et des capacités d'adaptation des individus. Les comparaisons multi espèces permettraient aussi de mieux comprendre pourquoi certains traits de personnalité et syndromes comportementaux sont présents dans différents taxons. Les études de ce type sont cependant relativement couteuses en termes de temps mais surtout en termes budgétaires, et nécessitent une stratégie de capitalisation d'une expérience à l'autre (bancairisation de tissus, etc...).

Par ailleurs, l'étude de l'émotivité (i.e. incluant la dimension psychologique) et les tests de conditionnement avec stimuli positifs et négatifs, liés au coping styles, permettront de mieux comprendre comment les individus perçoivent leur environnement. Ceci permettra probablement une nette amélioration de la compréhension de la perception du stress chez les téléostéens, et à terme d'améliorer sensiblement leur bien-être. Cependant, les émotions ne sont pas unanimement reconnues chez les animaux, et de nombreux travaux sont nécessaires afin de prouver l'existence de cette dimension.

Il n'existe pas de stratégie comportementale qui soit meilleurs qu'une autre. Ces stratégies sont simplement adaptées à des situations et environnements différents.

MISE EN GARDE

Dans toutes les études comportementales, les effectifs analysés sont relativement faibles et les résultats sont souvent comparés avec des études réalisées sur des lignées fortement sélectionnées. Or, il faut garder à l'esprit que la sélection d'un comportement ou d'une réponse physiologique sur un nombre important de générations diminue la variabilité génétique, les traits sélectionnés se trouvent donc beaucoup moins variables. Il faut donc être relativement prudent quant aux études sur des espèces sauvages ou non domestiquées, car très peu d'études répètent les analyses et les résultats sont trop souvent considérés comme acquis. Dans ce sens, des études sur des effectifs relativement importants (au moins 1000) sont absolument nécessaires pour palier aux artéfacts d'échantillonnage. Par ailleurs, les méthodes statistiques utilisées ne sont pas forcément les mieux adaptées comme nous avons pu le discuter dans la section « Variabilité ».

L'augmentation des effectifs (rendu possible par le développement de tests en groupe), la répétition des études ainsi que l'utilisation des méthodes statistiques appropriées permettront d'obtenir des résultats plus robustes.

CONCLUSION

Les trois objectifs de cette thèse ont été atteints. Nous avons mis en évidence l'existence de traits de personnalité et de coping styles chez le bar, puis évalué leurs variabilités au sein de différentes populations et ou lignées. Nous avons par ailleurs démontré une base génétique de l'audace chez le bar, et mis en avant des liens entre coping style, croissance et niveaux de sélection. Cette thèse présente par ailleurs différents aspects novateurs. Le développement d'une méthode de suivi individuel précoce et l'utilisation conjointe de tests comportementaux, physiologiques et génétiques, mais aussi le développement de tests à grande échelle permettant maintenant de démarrer des programmes de sélection incluant la personnalité comme un nouvel outil.

Le tableau suivant présente les caractéristiques comportementales et physiologiques observés chez le bar selon les coping styles :

Tableau 1 : Récapitulatif des comportements observés chez le bar selon le coping style des individus. Les signes « + » et « - » signifient des valeurs plus ou moins importantes pour les variables considérées. (Ce tableau ne tiens pas compte des différentes lignées).

Test	Variables	Coping style	
		Proactifs	Réactifs
Hypoxie	Taux individuel d'O ₂ lors du passag en zone normoxique	+	-
	Nombre de passages	+	-
Prise de risque	Ordre de passage	-	+
	Nombre de passages	+	-
	Latence avant premier passage	-	+
Exploration	Distance parcourue	+	-
	Vitesse angulaire	-	+
	Surface explorée	+	-
Sociabilité	Distance parcourue	+	-
	Temps passé près du congénère	-	+
Contrainte	Latence avant première tentative de fuite	-	+
	Nombre de tentatives de fuite	+	-
	Durée total de fuite	+	-
Reprise alimentaire	Latence avant première alimentation	-	+
	Score alimentaire	+	-
	Nombre de jour ou l'individu s'est alimenté	+	-
Cortisol	Après un stress ponctuel	-	+
	Après un stress chronique	+	-

POUR UNE FUTURE THESE

Ces travaux étant la suite d'une réflexion de deux thèses, mais aussi parce que toute thèse soulève de nombreuses questions, il me serait impossible de terminer ce manuscrit sans proposer quelques idées d'expériences pour la prochaine thèse qui viendra compléter cette série. Il serait par exemple intéressant de caractériser le coping style des individus puis de marquer au moyen de perles de couleur les individus proactifs et réactifs. Cela permettrait en conditions expérimentales d'auto-alimentation d'étudier la répartition spatiale des individus de chaque catégorie dans leur bassin, de mieux comprendre les interactions mais aussi d'approfondir la compréhension de la structure coopérative du bar face au système d'auto-alimentation. Une fois les individus marqués avec des perles, nombreux sont les tests qui pourraient être réalisés. Une déclinaison du test de stimulation mécano-acoustique en groupe permettrait de mieux comprendre le rôle de ces stratégies comportementales d'adaptation, en étudiant la structure spatiale de la répartition des individus au sein du groupe lors de situations stressantes. Pour mieux comprendre les facteurs influençant les traits de personnalité, il serait aussi intéressant de tester l'influence de différents facteurs environnementaux à des âges précoces puis de voir si l'impact de ces facteurs est réversible, et si la valence de ces facteurs impact cette réversibilité. Enfin, il serait très intéressant de réaliser des études sur des individus de même pédigré, mais élevés dans différents sites de production afin d'étudier l'effet des pratiques d'élevage et de l'environnement sur la personnalité des téléostéens.

Références bibliographiques



A

- Abrahams, M.V., Dill, L.M., 1989. A Determination of the energetic equivalence of the risk of predation. *Ecology* 70, 999-1007.
- Acolas, M.L., Roussel, J.M., Lebel, J.M., Baglinière, J.L., 2007. Laboratory experiment on survival, growth and tag retention following PIT injection into the body cavity of juvenile brown trout (*Salmo trutta*). *Fisheries Research* 86, 280-284.
- Adriaenssens, B., Johnsson, J.I., 2011a. Learning and context-specific exploration behaviour in hatchery and wild brown trout. *Applied Animal Behaviour Science* 132, 90-99.
- Adriaenssens, B., Johnsson, J.I., 2011b. Shy trout grow faster: exploring links between personality and fitness-related traits in the wild. *Behavioral Ecology* 22, 135-143.
- Alanärä, A., 1992a. Demand-feeding as a self-regulating feeding system for rainbow trout in net-pens. *Aquaculture* 100, 167-167.
- Alanärä, A., 1992b. The effect of time-restricted demand feeding on feeding activity growth and feed conversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 108, 357-368.
- Alanärä, A., 1992c. The effect of time-restricted demand feeding on feeding activity, growth and feed conversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 108, 357-368.
- Alanärä, A., 1993. Significance of substrate and the timing of start-feeding in alevins of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 111, 47-55.
- Alanärä, A., 1996. The use of self-feeders in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production. *Aquaculture* 145, 1-20.
- Alanärä, A., Brännäs, E., 1996. Dominance in demand-feeding behaviour in Arctic charr and rainbow trout: the effect of stocking density. *Journal of Fish Biology* 48, 242-254.
- Alanärä, A., Winberg, S., Brännäs, E., Kiessling, A., Höglund, E., Elofsson, U., 1998. Feeding behaviour, brain serotonergic activity levels, and energy reserves of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) within a dominance hierarchy. *Canadian Journal of Zoology* 76, 212-220.
- Anholt, B.R., Werner, E., Skelly, D.K., 2000. Effect of food and predators on the activity of four larval ranid frogs. *Ecology* 81, 3509-3521.
- Anthouard, M., 1987. Apprentissage par observation chez *Dicentrarchus labrax* : un exemple du rôle de la facilitation sociale dans les phénomènes adaptatifs. In compte rendu de la 2eme réunion française de physiologie des poissons, 7-10/09/87, J Boisseau et al eds, CEMAGREF, pp120, 8-9.
- Anthouard, M., Desportes, C., Kentouri, M., Divanach, P., Paris, J., 1986. Etude des modèles comportementaux manifestés au levier par *Dicentrarchus labrax*, *Diplodus sargus*, *Puntazzo puntazzo*, *Sparus aurata*, et *Lithognathus mormyrus* (Poissons téléostéens), placés dans une situation de nourrissage auto-contrôlé. *Biology of the Behavior* 11, 97-110.
- Aranda, A., Sánchez-Vázquez, F.J., Madrid, J.A., 2001. Effect of short-term fasting on macronutrient self-selection in sea bass. *Physiology & behavior* 73, 105-109.
- Archard, G.A., Braithwaite, V.A., 2011. Increased exposure to predators increases both exploration and activity level in *Brachycephalus episcopi*. *Journal of Fish Biology* 78, 593-601.
- Archard, G.A., Earley, R.L., Hanninen, A.F., Braithwaite, V.A., 2012. Correlated behaviour and stress physiology in fish exposed to different levels of predation pressure. *Functional Ecology* 26, 637-645.

- Arends RJ, Mancera JM, Munoz JL, Wendelaar Bonga SE, G, F., 1999. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. . J. Endocrinol., 163, 149-157.
- Ariyomo, T., Carter, M., Watt, P., 2013. Heritability of Boldness and Aggressiveness in the Zebrafish. Behavior Genetics 43(2): 161-167.
- Arms, K., Camp, P.S., 1989. Biologie, tome I. Les Editions de la Chenelière inc., Montréal, 11-12 pp.
- Arnold, C., Taborsky, B., 2010. Social experience in early ontogeny has lasting effects on social skills in cooperatively breeding cichlids. Animal Behaviour 79, 621-630.
- Ashley, P.J., 2006. Fish welfare: Current issues in aquaculture. Applied Animal Behaviour Science 104, 199-235.
- Ayroles, J.F., Buchanan, S.M., Jenney, C., Skutt-Kakaria, K., Grenier, J., Clark, A.G., Hartl, D.L., de Bivort, B.L., 2014. Behavioral individuality reveals genetic control of phenotypic variability.
- Azzaydi, M., Madrid, J.A., Sánchez-Vázquez, F.J., Martínez, F.J., 1998. Effect of feeding strategies (automatic, ad libitum demand feeding and time-restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture 163, 285-296.

B

- Babouchkine Y.P., 1987. La sélection d'une carpe résistant à l'hiver. . In : Proc. World Symp. on Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture 1, 447-454.
- Balon, E.K., 1995. Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from roman gourmets of the swimming flowers. Aquaculture 129, 3-48.
- Balon, E.K., 2004. About the oldest domesticates among fishes. Journal of Fish Biology 65, 1-27.
- Baras, E., Malbrouck, C., Houbart, M., Kestemont, P., Mélard, C., 2000. The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size. Aquaculture 185, 159-173.
- Baras, E., Westerloppe, L., Mélard, C., Philippart, J.C., Bénech, V., 1999. Evaluation of implantation procedures for PIT-tagging juvenile Nile Tilapia. North American Journal of Aquaculture 61, 246-251.
- Barnabé, G., Biological basis of fish culture, pp. 214-315. In: G Barnabé, [Ed.] 1994. Aquaculture: Biology and ecology of cultured species. Ellis Horwood, New York.
- Barnabé, G., 1976. Contribution à la connaissance de la biologie du loup (*Dicentrarchus labrax* L.) de la région de Sète. Thèse 3ème Cycle, Univ. Sc. Techn. Languedoc, Montpellier, 160 pp.
- Barnabé, G., 1978. Etude dans le milieu naturel et en captivité de l'écoéthologie du Loup *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson Serranidae) à l'aide de nouvelles techniques. Annales Sciences Naturelles, Zoologie, Paris, 12e série, 20, 423-502.
- Barnabé, G., 1980. Exposé synoptique des données biologiques sur le loup, *Dicentrarchus labrax* (Linné, 1758). Synopsis FAO Pêches 126, 70 pp.
- Barnard, C.J., Sibly, R.M., 1981. Producers and scroungers: A general model and its application to captive flocks of house sparrows. Animal Behaviour 29, 543-550.
- Barnett, S.A., Cowan, P.E., 1976. Activity, exploration, curiosity and fear: an ethological study. . Interdisciplinary Science. Review 1, 43-62.



- Barton, B.A., 1997. Stress in finfish: past, present and future - a historical perspective. In: Fish Stress and Health in Aquaculture (Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. and Schreck, C.B.), Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 1-33 pp.
- Barton, B.A., 2002. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids, pp. 517-525.
- Bas Peired, C., 2002. El Mar Mediterráneo: recursos y explotación.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R.H.B., Singmann, H., Dai, B., 2014. Package 'lme4': Linear mixed-effects models using Eigen and S4. CRAN.
- Becker, W.A., 1984. Manual of Quantitative Genetics. Academic Enterprises, Pullman, Washington, 188 pp.
- Bégout Anras, M.L., Lagardère, J.P., 2004. Domestication et comportement chez les poissons téléostéens. INRA Production Animale 17, 211-215.
- Bell, Alison, M., Hankison, Shala, J., Laskowski, Kate, L., 2009. The repeatability of behaviour : a meta-analysis. Elsevier, Amsterdam, PAYS-BAS.
- Bell, A.M., 2007. Future directions in behavioural syndromes research. Proceedings of The Royal Society 274, 755-761.
- Bell, A.M., Stamps, J.A., 2004. Development of behavioural differences between individuals and populations of sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. Animal Behaviour 68, 1339-1348.
- Benhaïm, D., 2011. Caractérisation de l'adaptation comportementale des téléostéens en élevage: plasticité et effets de la domestication Thèse doc., La Rochelle., 250 pp.
- Benhaïm, D., Bégout, M.-L., Péan, S., Brisset, B., Leguay, D., Chatain, B., 2012a. Effect of fasting on self-feeding activity in juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Applied Animal Behaviour Science 136, 63-73.
- Benhaïm, D., Péan, S., Lucas, G., Blanc, N., Chatain, B., Bégout, M.-L., 2012b. Early life behavioural differences in wild caught and domesticated sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Applied Animal Behaviour Science 141, 79-90.
- Benjamin, J., Li, L., Patterson, C., Greenberg, B.D., Murphy, D.L., Hamer, D.H., 1996. Population and familial association between the D4 dopamine receptor gene and measures of novelty seeking. . Nature Genetics 12, 81-84.
- Benus, R.F., Bohus, B., Koolhaas, J.M., Oortmerssen, G.A., 1991. Heritable variation for aggression as a reflection of individual coping strategies. Experientia 47, 1008-1019.
- Benus, R.F., Koolhaas, J.M., Van Oortmerssen, G.A., 1988. Aggression and adaptation to the light-dark cycle: Role of intrinsic and extrinsic control. Physiology & Behavior 43, 131-137.
- Benus, R.F., Koolhaas, J.M., van oortmerssen, G.A., 1992. Individual strategies of aggressive and non-aggressive male mice in encounters with trained aggressive residents. Animal Behaviour 43, 531-540.
- Bilio, M., 2007. Controlled reproduction and domestication in aquaculture. The current state of the art Part I. Aquaculture Europe 32, 1-14.
- Biro, P.A., Beckmann, C., Stamps, J.A., 2010. Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 277, 71-77.
- Biro, P.A., Stamps, J.A., 2008. Are animal personality traits linked to life-history productivity? Trends in Ecology & Evolution 23, 361-368.

- Biro, P.A., Stamps, J.A., 2010. Do consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior? *Trends in Ecology & Evolution* 25, 653-659.
- Boissy, A., 1995. Fear and fearfulness in animals. *Quarterly Review of Biology* . 70, 165-191.
- Bolhuis, J.E., Schouten, W.G.P., Leeuw, J.A.d., Schrama, J.W., Wiegant, V.M., 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioural flexibility in pigs. *Behavioural Brain Research* 152, 351-360.
- Bonga, S., 1997. The stress response in fish. *Physiol Rev* 77, 591 - 625.
- Boon, A.K., Réale, D., Boutin, S., 2007. The interaction between personality, offspring fitness and food abundance in North American red squirrels. *Ecology Letters* 10, 1094-1104.
- Bouissou, M.F., Boissy, A., 2005. Le comportement social des bovins et ses conséquences en élevage. *INRA Production Animale* 18, 87-99.
- Boujard, T., Jourdan, M., Kentouri, M., Divanach, P., 1996. Diel feeding activity and the effect of time-restricted self-feeding on growth and feed conversion in European sea bass. *Aquaculture* 139, 117-127.
- Boujard, T., Leatherland, J.F., 1992. Demand-feeding behavior and diel pattern of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. *Journal of Fish Biology* 40, 535-544.
- Braithwaite, V., 2010. Do fish feel pain? Oxford university press.
- Braithwaite, V.A., Salvanes, A.G.V., 2005. Environmental variability in the early rearing environment generates behaviourally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 272, 1107-1113.
- Brannas, E., Alanara, A., 1993. Monitoring the demand feeding activity of individual fish with a demand feeding system. *Journal of Fish Biology* 42, 209-215.
- Brannas, E., Alanara, A., 1994. Effect of reward level on individual variability in demand feeding activity and growth rate in Arctic charr and rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 45, 423-434.
- Brelín, D., Petersson, E., Dannewitz, J., Dahl, J., Winberg, S., 2008. Frequency distribution of coping strategies in four populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Hormones and Behavior* 53, 546-556.
- Brelín, D., Petersson, E., Winberg, S., 2005. Divergent Stress Coping Styles in Juvenile Brown Trout (*Salmo trutta*). *Annals of the New York Academy of Sciences* 1040, 239-245.
- Briffa, M., Greenaway, J., 2011. High *in situ* repeatability of behaviour indicates animal personality in the Beadlet anemone *Actinia equina* (Cnidaria). *PLoS ONE* 6, e21963.
- Brisbin, I.L.J., Risch, T.S., 1997. Primitive dogs, their ecology and behavior: unique opportunities to study the early development of the human-canine bond. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 210, 1122-1126.
- Brokordt, K., Farias, W., Lhorente, J.P., Winkler, F., 2012. Heritability and genetic correlations of escape behaviours in juvenile scallop *Argopecten purpuratus*. *Animal Behaviour* 84, 479-484.
- Broom, D.M., (1987). 101-110., 1987. Applications of neurobiological studies to farm animal welfare. In: *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*, Wiepkema, P.R., Van Adrichem, P.W.M. (Eds.), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, UK., 101-110.
- Brown, C., 2014. Fish intelligence, sentience and ethics. *Animal Cognition*, 1-17.



- Brown, C., Braithwaite, V.A., 2004. Size matters: a test of boldness in eight populations of the poeciliid *Brachyraphis episcopi*. *Animal Behaviour* 68, 1325-1329.
- Brown, C., Burgess, F., Braithwaite, V., 2007. Heritable and experiential effects on boldness in a tropical poeciliid. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62, 237-243.
- Brown, C., Jones, F., & Braithwaite, V., 2005. In situ examination of boldness-shyness traits in the tropical poeciliid, *Brachyraphis episcopi*. *Animal Behaviour* 70, 1003-1009.
- Budaev, S., Brown, C., 2011. *Personality Traits and Behaviour, Fish Cognition and Behavior*, Wiley-Blackwell, pp. 135-165.
- Budaev, S.V., 1999. Sex differences in the Big Five personality factors: Testing an evolutionary hypothesis. *Personality and Individual Differences* 26, 801-813.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., 2002. Individuality in fish behavior: Ecology and comparative psychology. *Journal of Ichthyology* 42, S189-S195.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., Mochek, A.D., 1999a. Consistency of individual differences in behaviour of the lion-headed cichlid, *Steatocranus casuarius*. *Behavioural Processes* 48, 49-55.
- Budaev, S.V., Zworykin, D.D., Mochek, A.D., 1999b. Individual differences in parental care and behaviour profile in the convict cichlid: a correlation study. *Animal Behaviour* 58, 195-202.

C

- Cannon, W.B., 1915. *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage*. New York: Appleton.
- Cannon, W.B., 1932. *The Wisdom of the Body*. New York: Norton.
- Careau, V., Garland Jr, T., 2012. Performance, personality, and energetics: correlation, causation, and mechanism. *Physiological and Biochemical Zoology* 85, 543.
- Careau, V., Réale, D., Humphries, M.M., Thomas, D.W., 2010. The pace of life under artificial selection: Personality, energy expenditure, and longevity are correlated in domestic dogs. *American Naturalist* 175, 753-758.
- Careau, V., Thomas, D., Humphries, M., Réale, D., 2008. Energy metabolism and animal personality. *Oikos* 117, 641-653.
- Carere, C., Drent, P.J., Koolhaas, J.M., Groothuis, T.G.G., 2005a. Epigenetic effects on personality traits: early food provisioning and sibling competition. *142*, 1329-1355.
- Carere, C., Drent, P.J., Privitera, L., Koolhaas, J.M., Groothuis, T.G.G., 2005b. Personalities in great tits, *Parus major*: stability and consistency. *Animal Behaviour* 70, 795-805.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T.E., Taylor, A., Craig, I.W., Harrington, H., McClay, J., Mill, J., Martin, J., Braithwaite, A., Poulton, R., 2003. Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT Gene. *Science* 301, 386-389.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceicao, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013b. Can We Predict Personality in Fish? Searching for Consistency over Time and across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Castanheira, M.F., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L.E.C., Martins, C.I.M., 2013a. Linking cortisol responsiveness and aggressive behaviour in gilthead seabream *Sparus aurata*: Indication of divergent coping styles. *Applied Animal Behaviour Science* 143, 75-81.

- Champoux, M., Bennett, A., Shannon, C., Higley, J.D., Lesch, K.P., Suomi, S.J., 2002. Serotonin transporter gene polymorphism, differential early rearing, and behavior in rhesus monkey neonates. *Molecular Psychiatry* 7, 1058-1063.
- Chapman, B.B., Morrell, L.J., Benton, T.G., Krause, J., 2008. Early interactions with adults mediate the development of predator defenses in guppies. *Behavioral Ecology* 19, 87-93.
- Chapman, B.B., Morrell, L.J., Krause, J., 2010. Unpredictability in food supply during early life influences boldness in fish. *Behavioral Ecology* 21, 501-506.
- Chatain, B., 1994. Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*.
- Chen, W.M., Mayumi, N., Mitsuo, T., 2002. Circadian rhythms and individual variability of self-feeding activity in groups of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 33, 491-500.
- Chervet, N., Zöttl, M., Schürch, R., Taborsky, M., Heg, D., 2011. Repeatability and heritability of behavioural types in a social cichlid. *International Journal of Evolutionary Biology*, vol. 2011, Article ID 321729, 15 pages.
- Chitty, D., 1967. The natural selection of self-regulatory behaviour in animal populations. . *Proc. Ecol. Soc. Austral.* 2, 51-78.
- Christensen, K., Brunelli, J., Wheeler, P., Thorgaard, G., 2014. Antipredator behavior QTL: Differences in rainbow trout clonal lines derived from wild and hatchery populations. *Behavior Genetics*, 1-12.
- Chrousos, G.P., 2009. Stress and disorders of the stress system. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5, 374-381.
- Clark, C.W., Mangel, M., 1984. Foraging and flocking strategies: information in an uncertain environment. *American Naturalist* 123, 626-641.
- Cole, E.F., Quinn, J.L., 2012. Personality and problem-solving performance explain competitive ability in the wild. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 1168-1175.
- Coleman, K., Wilson, D.S., 1998. Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behaviour* 56, 927-936.
- Conte, F.S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science* 86, 205-223.
- Coolen, I., Giraldeau, L.-A., Lavoie, M., 2001. Head position as an indicator of producer and scrounger tactics in a ground-feeding bird. *Animal Behaviour* 61, 895-903.
- Coplan, J.D., Andrews, M.W., Rosenblum, L.A., Owens, M.J., Friedman, S., Gorman, J.M., Nemeroff, C.B., 1996. Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in adult nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93, 1619-1623.
- Coppens, C.M., de Boer, S.F., Koolhaas, J.M., 2010. Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 4021-4028.
- Cote, J., Clobert, J., 2007. Social personalities influence natal dispersal in a lizard. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274, 383-390.
- Cote, J., Fogarty, S., Sih, A., 2012. Individual sociability and choosiness between shoal types. *Animal Behaviour* 83, 1469-1476.



- Cousin, X., Daouk, T., Péan, S., Lyphout, L., Schwartz, M.-E., Bégout, M.-L., 2012. Electronic individual identification of zebrafish using radio frequency identification (RFID) microtags. *The Journal of Experimental Biology* 215, 2729-2734.
- Covès, D., Beauchaud, M., Attia, J., Dutto, G., Bouchut, C., Bégout, M.L., 2006. Long-term monitoring of individual fish triggering activity on a self-feeding system: An example using European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 253, 385-392.
- Covès, D., Gasset, E., Lemarié, G., Dutto, G., 1998. A simple way of avoiding feed wastage in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, under self-feeding conditions. *Aquat. Living Resour.* 6, 395-401.
- Cutts, C.J., Adams, C.E., Campbell, A., 2001. Stability of physiological and behavioural determinants of performance in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58, 961-968.

D

- Dagnélie, P. (Ed.), 1975. *Théorie et méthodes statistiques. Applications agronomiques*.
- Dahlbom, S.J., Lagman, D., Lundstedt-Enkel, K., Sundström, L.F., Winberg, S., 2011. Boldness predicts social status in zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS ONE* 6, e23565.
- Damsgard, B., Dill, L.M., 1998. Risk-taking behavior in weight-compensating coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Behavioral Ecology* 9, 26-32.
- Danchin, E., Giraldeau, L.-A., Cézilly, F., 2005. *Ecologie Comportementale*. Editions Dunod, Paris, 637 pp.
- Darwin, C., 1859. *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life*. . London: Murray. [1st ed.]
- Darwin, C., 1872 *The Expression of the Emotions in Man and Animals*. . Philosophical Library. Darwin, C. (1998) 3rd edn
- Daulé, S., Vandeputte, M., Vergnet, A., Guinand, B., Grima, L., Chatain, B., 2014. Effect of selection for fasting tolerance on feed intake, growth and feed efficiency in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 420–421, Supplement 1, S42-S49.
- David, M., Auclair, Y., Cézilly, F., 2012. Assessing short- and long-term repeatability and stability of personality in captive zebra finches using longitudinal data. *Ethology* 118, 932-942.
- David, M., Cézilly, F., Giraldeau, L.-A., 2011. Personality affects zebra finch feeding success in a producer–scrounger game. *Animal Behaviour* 82, 61-67.
- Davidson, A.J., Stephan, F.K., 1999. Plasma glucagon, glucose, insulin, and motilin in rats anticipating daily meals. *Physiology & Behavior* 66, 309-315.
- Dawkins, M.S., 1983. *La souffrance animale*. Maisons-Alfort, éditions du Point vétérinaire, 138 p.
- de Boer, S.F., de Beun, R., Slangen, J.L., van der Gugten, J., 1990. Dynamics of plasma catecholamine and corticosterone concentrations during reinforced and extinguished operant behavior in rats. *Physiology & Behavior* 47, 691-698.
- Decourtye, A., Devillers, J., Aupinel, P., Brun, F., Bagnis, C., Fourrier, J., Gauthier, M., 2011. Honeybee tracking with microchips: a new methodology to measure the effects of pesticides. *Ecotoxicology* 20, 429-437.

- Dempster, E.R., Lerner, I.M., 1950. Heritability of threshold characters. *Genetics* 35, 212-236.
- Di-Poï, C., 2008. Déterminisme de la structure sociale chez le bar juvénile *Dicentrarchus labrax* en conditions d'auto-nourrissage : Approches neuro-éthologique et physiologique. Thèse doc., Saint-Etienne, 257 pp.
- Di-Poï, C., Attia, J., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Beauchaud, M., 2007. Behavioral and neurophysiological responses of European sea bass groups reared under food constraint. *Physiology & behavior* 90, 559-566.
- Di-Poï, C., Beauchaud, M., Bouchut, C., Dutto, G., Covès, D., Attia, J., 2008. Effects of high food demand fish removal in groups of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Canadian Journal of Zoology* 86, 1015-1023.
- Dill, L.M., 1983. Adaptive Flexibility in the Foraging Behavior of Fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40, 398-408.
- Dingemanse, N.J., Barber, I., Wright, J., Brommer, J.E., 2012. Quantitative genetics of behavioural reaction norms: genetic correlations between personality and behavioural plasticity vary across stickleback populations. *Journal of Evolutionary Biology* 25, 485-496.
- Dingemanse, N.J., Both, C., Drent, P.J., van Oers, K., van Noordwijk, A.J., 2002. Repeatability and heritability of exploratory behaviour in great tits from the wild. *Animal Behaviour* 64, 929-938.
- Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Réale, D., Wright, J., 2010. Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 81-89.
- Drent, P.J., van Oers, K., van Noordwijk, A.J., 2003. Realized heritability of personalities in the great tit (*Parus major*). *Proc Biol Sci.* 270, 45-51.
- Driscoll, P., Escorihuela, R.M., Fernandez-Teruel, A., Giorgi, O., Schwegler, H., Steimer, T., Wiersma, A., Corda, M.G., Flint, J., Koolhaas, J.M., Langhans, W., Schulz, P.E., Siegel, J., Tobenă, A., 1998. Genetic selection and differential stress responses—the Roman lines/strains of rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 851, 501-510.
- Duarte, C.M., Marba, N., Holmer, M., 2007. ECOLOGY: Rapid domestication of marine species. *Science* 316, 382-383.
- Dunbrack, R.L., Clarke, L., Bassler, C., 1996. Population level differences in aggressiveness and their relationship to food density in a stream salmonid (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of Fish Biology* 48, 615-622.
- Duncan I.J.H., 2005. Science-based assessment of animal welfare: farm animals. . *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 24, 483-492.
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Chevassus, B., 2002. Optimization of factorial mating designs for inference on heritability in fish species. *Aquaculture* 204, 361-370.
- Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., Vergnet, A., Merdy, O., Haffray, P., Chavanne, H., Chatain, B., 2008. Heritabilities and GxE interactions for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using a marker-based pedigree. *Aquaculture* 275, 81-87.
- Dupont-Prinet, A., 2009. Physiologie cardio-respiratoire du loup, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) : mécanismes de base et implications écologiques. Thèse de Doctorat Université de Montpellier 2.
- Dyer, J.R.G., Croft, D.P., Morrell, L.J., Krause, J., 2009. Shoal composition determines foraging success in the guppy. *Behavioral Ecology* 20, 165-171.



E

- Ebstein, R.P., Novick, O., Umansky, R., Priel, B., Osher, Y., Blaine, D., et al., 1996. Dopamine D4 receptor (DRD4) exon III polymorphism associated with the human personality trait of novelty seeking. *Nature Genetics* 12, 78-80.
- Echevarria, G., Martinez-Bebia, M., Zamora, S., 1997. Evolution of Biometric Indices and Plasma Metabolites During Prolonged Starvation in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* 118A, 111-123.
- Ekman, P., 1993. Facial expression of emotion. *American Psychologist* 48, 384-392.
- Ekman, P., 1998. Third edition of Charles Darwin's the expression of the emotions in man and animals. Oxford University Press.
- Ellenbroek, B.A., Cools, A.R., 2002. Apomorphine susceptibility and animal models for psychopathology: Genes and environment. *Behav. Genet.* 32, 349-361.
- Ellis, B.J., Jackson, J.J., Boyce, W.T., 2006. The stress response systems: Universality and adaptive individual differences. *Developmental Review* 26, 175-212.
- Ellis, T., Yildiz, H., López-Olmeda, J., Spedicato, M., Tort, L., Øverli, Ø., Martins, C.M., 2012. Cortisol and finfish welfare. *Fish Physiol Biochem* 38, 163-188.
- Engel, G., Schmale, A., 1972. Conservation withdrawal: a primary regulatory process for organic homeostasis. *Physiology, emotions and psychosomatic illness*, Elsevier 57-95.
- Eriksson, C.A., Booth, D.J., Biro, P.A., 2010. 'Personality' in two species of temperate damselfish. *Marine Ecology Progress Series* 420, 273-276.
- Eysenck, H.J., 1970. *The Structure of Human Personality*. Methuen, London.
- Eysenck, H.J., Eysenck, M.W., 1985. *Personality and Individual Differences. A Natural Science Approach*. Plenum Press, New York.

F

- Fanouraki, E., Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Pavlidis, M., 2011. Species specificity in the magnitude and duration of the acute stress response in Mediterranean marine fish in culture. *General and Comparative Endocrinology* 173, 313-322.
- FAO, 2008. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/fr.
- Faure, J.-M., 1979. Sélection génétique et stress. In: Séminaire des Groupements Techniques Vétérinaires, Tours, 10 mai 1979, 53-59.
- Ferrari, S., 2014. Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez le bar européen, *Dicentrarchus labrax*. Thèse de Doctorat.
- Ferrari, S., Benhaïm, D., Colchen, T., Chatain, B., Bégout, M.L., First links between self-feeding behaviour and personality traits in European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Applied Animal Behaviour Science* in press.
- Ferrari, S., Chatain, B., Cousin, X., Leguay, D., Vergnet, A., Vidal, M.-O., Vandeputte, M., Bégout, M.-L., 2014. Early individual electronic identification of sea bass using RFID microtags: A first example of early phenotyping of sex-related growth. *Aquaculture* 426–427, 165-171.

- Fevolden, S.-E., Roed, K., Fjalestad, K., 2002. Selection response of cortisol and lysozyme in rainbow trout and correlation to growth. *Aquaculture* 205, 61 - 75.
- Fevolden, S.E., Nordmo, R., Refstie, T., Røed, K.H., 1993a. Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) selected for high or low responses to stress. *Aquaculture* 109, 215-224.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Gjerde, B., 1993b. Genetic and phenotypic parameters for cortisol and glucose stress response in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* 118, 205-216.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Røed, K., 1993c. Selection for enhanced stress resistance in salmonid fish. *Aquaculture* 111, 293-293.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Røed, K.H., 1991. Selection for high and low cortisol stress response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 95, 53-65.
- Fillenz, M., 1993. Neurochemistry of stress: introduction to techniques. In: *Stress From Synapse to Syndrome* (S. C. Stanford and P. Salmon, eds.). Academic Press, London., 247-279.
- Fontaine, P., Le Bail, P., 2004. Domestication et croissance chez les poissons. *INRA Productions Animales* 17, 217-225.
- Fox, R.A., Millam, J.R., 2004. The effect of early environment on neophobia in orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*). *Applied Animal Behaviour Science* 89, 117-129.
- Fraser, D., Gilliam, J., JDaley, M., NLe, A., Skalski, G., 2001. Explaining leptokurtic movement distributions: Intrapopulation variation in boldness and exploration. *The American Naturalist* 158, 124-135.
- Frimodt, C., 1995 Multilingual illustrated guide to the world's commercial warmwater fish. Fishing News Books, Osney Mead, Oxford, England. , 215 p.
- Frost, A.J., Thomson, J.S., Smith, C., Burton, H.C., Davis, B., Watts, P.C., Sneddon, L.U., 2013. Environmental change alters personality in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Animal Behaviour* 85, 1199-1207.
- Frost, A.J., Winrow-Giffen, A., Ashley, P.J., Sneddon, L.U., 2007. Plasticity in animal personality traits: does prior experience alter the degree of boldness? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274, 333-339.
- Fry, F.E.J., 1971. The Effect of Environmental Factors on the Physiology of Fish, in: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, Academic Press, pp. 1-98.

G

- Gallet F., Cazaubon E., 1998. Le bar commun (*Dicentrarchus labrax*) et son exploitation dans le Golfe de Gascogne en 1996. . *Observatoire des pêches et des cultures marines du golfe de Gascogne*, volet Ressources Vivantes., 25 p.
- Geffroy, B., Bru, N., Dossou-Gbété, S., Tentelier, C., Bardonnnet, A., 2014a. The link between social network density and rank-order consistency of aggressiveness in juvenile eels. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 68, 1073-1083.
- Geffroy, B., Sadoul, B., Bardonnnet, A., 2014b. Behavioural syndrome in juvenile eels and its ecological implacation. *Behaviour*.
- Gibbons, J.M., Lawrence, A.B., Haskell, M.J., 2010. Measuring sociability in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* 122, 84-91.



- Giraldeau, L.A., Beauchamp, G., 1999. Food exploitation: searching for the optimal joining policy. *Trends in Ecology & Evolution* 14, 102-106.
- Godin, J.-G.J., Dugatkin, L.A., 1996. Female mating preferences for bold males in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 10262-10267.
- Gosling, S.D., 2001. From mice to men: What can we learn about personality from animal research? *Psychological Bulletin* 127, 45-86.
- Gosling, S.D., John, O.P., 1999. Personality dimensions in nonhuman animals: A cross-species review. *Current Directions in Psychological Science* 8, 69-75.
- Gregory, T.R., Wood, C.M., 1999. The effects of chronic plasma cortisol elevation on the feeding behaviour, growth, competitive ability, and swimming performance of juvenile rainbow trout. *Physiological and Biochemical Zoology* 72, 286-295.
- Grima, L., Chatain, B., Ruelle, F., Vergnet, A., Launay, A., Mambrini, M., Vandeputte, M., 2010a. In search for indirect criteria to improve feed utilization efficiency in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Part II: Heritability of weight loss during feed deprivation and weight gain during re-feeding periods. *Aquaculture* 302, 169-174.
- Grima, L., Vandeputte, M., Ruelle, F., Vergnet, A., Mambrini, M., Chatain, B., 2010b. In search for indirect criteria to improve residual feed intake in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Part I: Phenotypic relationship between residual feed intake and body weight variations during feed deprivation and re-feeding periods. *Aquaculture* 300, 50-58.
- Grinsted, L., Pruitt, J.N., Settepani, V., Bilde, T., 2013. Individual personalities shape task differentiation in a social spider. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280.
- Groeneveld, E., Kovac, M., Mielenz, N., 2010. VCE User's Guide and Reference Manual Version 6.0.

H

- Handeland, S.O., Imsland, A.K., Stefansson, S.O., 2008. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. *Aquaculture* 283, 36-42.
- Hariri, A.R., Mattay, V.S., Tessitore, A., Kolachana, B., Fera, F., Goldman, D., Egan, M.F., Weinberger, D.R., 2002. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science* 297, 400-403.
- Harlan, J., 1992. *Crops and man*. . Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Henry, J.P., Stephens, P.M., 1977. *Stress, Health and the social environment: a sociobiological approach to medicine*. Berlin: Springer.
- Hentschel, B., 1999. Complex lifecycles in a variable environment: predicting when the timing of metamorphosis shifts from resource dependent to developmentally fixed. *American Naturalist* 154, 549-558.
- Herrera, M., Castanheira, M.F., Conceição, L.E.C., Martins, C.I., 2014. Linking risk taking and the behavioral and metabolic responses to confinement stress in gilthead seabream *Sparus aurata*. *Applied Animal Behaviour Science* 155, 101-108.
- Highcock, L., Carter, A.J., 2014. Intraindividual variability of boldness is repeatable across contexts in a wild lizard. *PLoS ONE* 9, e95179.

- Höglund, E., Kolm, N., Winberg, S., 2001. Stress-induced changes in brain serotonergic activity, plasma cortisol and aggressive behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is counteracted by L-DOPA. *Physiology and Behavior* 74, 381-389.
- Holmes, A., 2008. Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. Review. *Neurosci Biobehav Rev* 32:1293–314.
- Hughes, B.O., 1976. Behaviour as an Index of Welfare. Proceedings of the 5th European Poultry Conference, Malta, 5-11 September, 1005-1018.
- Hughes, R.N., Kaiser, M.J., Mackney, P.A., Warburton, K., 1992. Optimizing foraging behaviour through learning. *Journal of Fish Biology* 41 B, 77-91.
- Huntingford, F.A., 1976. The relationship between antipredator behaviour and aggression among conspecifics in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Animal Behaviour* 24, 245-260.
- Huntingford, F.A., 2004. Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. *Journal of Fish Biology* 65, 122-142.
- Huntingford, F.A., Adams, C., 2005. Behavioural syndromes in farmed fish: implications for production and welfare. *Behaviour* 142, 1207-1221.
- Huntingford, F.A., Adams, C., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T.G., Sandøe, P., Turnbull, J.F., 2006. Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology* 68, 332-372.
- Huntingford, F.A., Andrew, G., Mackenzie, S., Morera, D., Coyle, S.M., Pilarczyk, M., Kadri, S., 2010. Coping strategies in a strongly schooling fish, the common carp *Cyprinus carpio*. *Journal of Fish Biology* 76, 1576-1591.

I, J

- Itoh, K., 2002. Personality research with non-human primates: Theoretical formulation and methods. *Primates*. 43.
- Iwama, G.K., Tautz, A., 1981. A simple growth model for salmonids in hatcheries. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38, 649-656.
- Jobling, M., 2003. The thermal growth coefficient (TGC) model of fish growth: a cautionary note. *Aquaculture Research* 34, 581-584.
- Jobling, M., Covès, D., Damsgard, B., Kristiansen, H.R., Koskela, J., Petursdottir, E., Kadri, S., Gudmundson, O., 2001. Techniques for measuring feed intake, in: Houliham, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), *Food Intake in Fish*, Blackwell Science, London, pp. 49-87.
- John, O.P., 1990. The "Big Five" factor taxonomy: Dimensions of personality in the natural language and in questionnaires. *Handbook of personality: Theory and research*, 66-100.
- Jutfelt, F., Bresolin de Souza, K., Vuylsteke, A., Sturve, J., 2013. Behavioural disturbances in a temperate fish exposed to sustained high-CO₂ levels. *PLoS ONE* 8, e65825.

K

- Kaidanovich-Beilin, O., Lipina, T., Vukobradovic, I., Roder, J., Woodgett, J.R., 2011. Assessment of Social Interaction Behaviors. *J Vis Exp.* (48): 2473



- Kaiser, S., Kruijver, F.P.M., Swaab, D.F., Sachser, N., 2003. Early social stress in female guinea pigs induces a masculinization of adult behavior and corresponding changes in brain and neuroendocrine function. *Behavioural Brain Research* 144, 199-210.
- Karahan, B., Chatain, B., Chavanne, H., Vergnet, A., Bardon, A., Haffray, P., Dupont-Nivet, M., Vandeputte, M., 2013. Heritabilities and correlations of deformities and growth-related traits in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L) in four different sites. *Aquaculture Research* 44, 289-299.
- Kavadias, S., Castritsi-Carharios, J., Dessypris, A., 2003. Annual cycles of growth rate, feeding rate, food conversion, plasma glucose and plasma lipids in a population of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) farmed in floating marine cages. *J. Appl. Ichthyol.* 19, 29-34.
- Kennedy, M., Fitzmaurice, P., 1968. Occurrence of eggs of bass *Dicentrarchus labrax* on the southern coasts of Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 48, 585-592.
- Killen, S.S., Marras, S., McKenzie, D.J., 2011a. Fuel, fasting, fear: routine metabolic rate and food deprivation exert synergistic effects on risk-taking in individual juvenile European sea bass. *Journal of Animal Ecology* 80, 1024-1033.
- Killen, S.S., Marras, S., Ryan, M.R., Domenici, P., McKenzie, D.J., 2011b. A relationship between metabolic rate and risk-taking behaviour is revealed during hypoxia in juvenile European sea bass. *Functional Ecology* 26, 134-143.
- Koolhaas, J.M., 2008. Coping style and immunity in animals: Making sense of individual variation. *Brain, Behavior, and Immunity* 22, 662-667.
- Koolhaas, J.M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S.F., Flügge, G., Korte, S.M., Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M., Fuchs, E., 2011. Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35, 1291-1301.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 925-935.
- Koolhaas, J.M., Meerlo, P., De Boer, S.F., Strubbe, J.H., Bohus, B., 1997. The temporal dynamics of the stress response. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 21, 775-782.
- Korte, S.M., Koolhaas, J.M., Wingfield, J.C., McEwen, B.S., 2005. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 3-38.
- Kortet, R., Vainikka, A., Janhunen, M., Piironen, J., Hyvärinen, P., 2014. Behavioral variation shows heritability in juvenile brown trout *Salmo trutta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 68(6): 927-934.
- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol, Switzerland. 646 p.
- Krause, J., Ruxton, G.D., 2002. Living in groups. Oxford University Press.
- Kremer, I., Bachner-Melman, R., Reshef, A., Broude, L., Nemanov, L., Gritsenko, I., et al., 2005. Association of the serotonin transporter gene with smoking behavior. *American Journal of Psychiatry* 162, 924-930.
- Kristensen, E.A., Closs, G.P., 2008. Variation in growth and aggression of juvenile brown trout (*Salmo trutta*) from upstream and downstream reaches of the same river. *Ecology of Freshwater Fish* 17, 130-135.

L

- Larivée, M.L., Boutin, S., Speakman, J.R., McAdam, A.G., Humphries, M.M., 2010. Associations between over-winter survival and resting metabolic rate in juvenile North American red squirrels. *Functional Ecology* 24, 597-607.
- Larrère, R., 2007. Justifications éthiques des préoccupations concernant le bien-être animal. *INRA Productions Animales* 20, 11-16.
- Laursen, D.C., L. Olsén, H., Ruiz-Gomez, M.d.L., Winberg, S., Höglund, E., 2011a. Behavioural responses to hypoxia provide a non-invasive method for distinguishing between stress coping styles in fish. *Applied Animal Behaviour Science* 132, 211-216.
- Le Boucher, R., Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Quillet, E., Ruelle, F., Vergnet, A., Kaushik, S., Allamellou, J.M., Médale, F., Chatain, B., 2013. Genotype by diet interactions in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Nutritional challenge with totally plant-based diets. *Journal of Animal Science* 91, 44-56.
- Leal, E., Fernández-Durán, B., Agulleiro, M.J., Conde-Siera, M., Míguez, J.M., Cerdá-Reverter, J.M., 2013. Effects of dopaminergic system activation on feeding behavior and growth performance of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach. *Hormones and Behavior* 64, 113-121.
- LeBlanc S, Höglund E, Gilmour KM, S, C., 2012. Hormonal modulation of the heat shock response: insights from fish with divergent cortisol stress responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012 Jan 1;302(1):R184-92.
- Lefevre, F., Bugeon, J., Auperin, B., Aubin, J., 2008. Rearing oxygen level and slaughter stress effects on rainbow trout flesh quality. *Aquaculture* 284, 81 - 89.
- Lemarié, G., Dosdat, A., Covès, D., Dutto, G., Gasset, E., Person-Le Ruyet, J., 2004. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 229, 479-491.
- Lepage, O., Øverli, Ø., Petersson, E., Jarvi, T., Winberg, S., 2000. Differential stress coping in wild and domesticated sea trout. *Brain. Behav. Evol.* 56, 259-268.
- Liao, I., Huang, Y., 2000. Methodology approach used for the domestication of potential candidates for aquaculture. In *Recent advances in mediterranean aquaculture finfish species diversification*. CIHEAM-IAMZ, Zaragoza. 97-107.
- Lloris D., 2002. A world overview of species of interest to fisheries. Chapter: *Dicentrarchus labrax*. Retrieved on 05 May 2005, from www.fao.org/figis/servlet/species?fid=2291. 3p. FIGIS Species Fact Sheets. Species Identification and Data Programme-SIDP, FAO-FIGIS.
- Lorenz, K.Z., 1974. Analogy as a source of knowledge. . *Science*. 185, 229-234.
- Lynch, M., Walsh, B., 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 980.

M

- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1967. *The theory of island biogeography*. . Princeton, NJ: Princeton University Press.



- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D.M., Kadri, S., Huntingford, F.A., 2009. Screening for coping style increases the power of gene expression studies. *PLoS ONE* 4, e5314.
- Mallekh, R., Lagardère, J.P., Bégout Anras, M.L., Lafaye, J.Y., 1998. Variability in appetite of turbot, *Scophthalmus maximus* under intensive rearing conditions: the role of environmental factors. *Aquaculture* 165, 123-138.
- Mambrini, M., Labbé, L., Randriamanantsoa, F., Boujard, T., 2006. Response of growth-selected brown trout (*Salmo trutta*) to challenging feeding conditions. *Aquaculture* 252, 429-440.
- Mangel, M., Stamps, J., 2001. Trade-offs between growth and mortality and the maintenance of individual variation in growth. *Evolutionary Ecology Research* 3, 583-593.
- Marchesan, M., Spoto, M., Verginella, L., Ferrero, E.A., 2005. Behavioural effects of artificial light on fish species of commercial interest. *Fisheries Research* 73, 171-185.
- Martin, J.G.A., Réale, D., 2008. Temperament, risk assessment and habituation to novelty in eastern chipmunks. *Tamias striatus*. *Anim. Behav.* 75, 309-3018.
- Martins, C.I.M., Castanheira, M.F., Engrola, S., Costas, B., Conceicao, L.E.C., 2011a. Individual differences in metabolism predict coping styles in fish. *Applied Animal Behaviour Science* 130, 135-143.
- Martins, C.I.M., Conceição, L.E.C., Schrama, J.W., 2011b. Consistency of individual variation in feeding behaviour and its relationship with performance traits in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Applied Animal Behaviour Science* 133, 109-116.
- Martins, C.I.M., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2005. The consistency of individual differences in growth, feed efficiency and feeding behaviour African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) housed individually. *Aquaculture Research* 36, 1509-1516.
- Martins, C.I.M., Silva, P.I.M., Conceição, L.E.C., Costas, B., Höglund, E., Overli, O., Schrama, J.W., 2011c. Linking fearfulness and coping styles in fish. *PLoS ONE* 6, e28084.
- Mason, J.W., 1971. A re-evaluation of the concept of non-specificity in stress theory. *J. Psychiatric Research in Developmental Disabilities* 8, 323-333.
- Mather, J.A., Anderson, A.C., 1993. Personalities of octopuses (*Octopus rubescens*). *Journal of Comparative Psychology* 107, 336-340.
- Maximino, C., de Brito, T.M., da Silva Batista, A.W., Herculano, A.M., Morato, S., Gouveia Jr, A., 2010. Measuring anxiety in zebrafish: A critical review. *Behavioural Brain Research* 214, 157-171.
- Maynard Smith, J., 1982. *Evolution and the Theory of Games*, Cambridge.
- McEwen, B.S., Stellar, E., 1993. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch. Intern. Med.* 153, 2093-2101.
- McEwen, B.S., Wingfield, J.C., 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior* 43, 2-15.
- McKenzie, D.J., Vergnet, A., Chatain, B., Vandeputte, M., Desmarais, E., Steffensen, J.F., Guinand, B., 2014. Physiological mechanisms underlying individual variation in tolerance of food deprivation in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *The Journal of Experimental Biology* 217, 3283-3292.
- Meaney, M.J., 2001. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience* 24, 1161-1192.

- Mignon-Grasteau, S., Faure, J.M., 2002. Génétique et adaptation: le point des connaissances chez les volailles. *INRA Production Animale* 15, 357-364.
- Millot, S., 2008. Domestication, sélection et comportement du bar. Variabilité des aptitudes comportementales et de la tolérance au stress de groupes génétiquement distincts de bar, *Dicentrarchus labrax*. Thèse doc., La Rochelle., 188 pp.
- Millot, S., Bégout, M.-L., 2009. Individual fish rhythm directs group feeding: a case study with sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) under self-demand feeding conditions. *Aquatic Living Resources* 22, 363-370.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Chatain, B., 2009a. Exploration behaviour and flight response toward a stimulus in three sea bass strains (*Dicentrarchus labrax* L.). *Applied Animal Behaviour Science* 119, 108-114.
- Millot, S., Bégout, M.-L., Person-Le Ruyet, J., Breuil, G., Di-Poï, C., Fievet, J., Pineau, P., Roué, M., Sévère, A., 2008. Feed demand behavior in sea bass juveniles: effects on individual specific growth rate variation and health (inter-individual and intergroup variation). *Aquaculture* 274, 87-95.
- Millot, S., Bégout, M.L., Benhaim, D., 2014a. Foraging behaviour. In : "The biology of sea bass". F.J. Sánchez-Vázquez F.J.S. & Muñoz-Cueto J.A. (eds). CRC Press, New Hampshire, USA, 207-230
- Millot, S., Bégout, M.L., Chatain, B., 2009b. Risk-taking behaviour variation over time in sea bass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *Journal of Fish Biology* 75, 1733-1749.
- Millot, S., Nilsson, J., Fosseidengen, J., Bégout, M.-L., Fernö, A., Braithwaite, V., Kristiansen, T., 2013. Innovative behaviour in fish: Atlantic cod can learn to use an external tag to manipulate a self-feeder. *Animal Cognition*, 1-7.
- Millot, S., Nilsson, J., Fosseidengen, J.E., Bégout, M.-L., Kristiansen, T., 2012. Evaluation of self-feeders as a tool to study diet preferences in groups of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquatic Living Resources* 25, 251-258.
- Millot, S., Péan, S., Chatain, B., Bégout, M.L., 2011. Self-feeding behavior changes induced by a first and a second generation of domestication or selection for growth in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Living Resources* 24, 53-61.
- Millot, S., Péan, S., Labbé, L., Kerneis, T., Quillet, E., Dupont-Nivet, M., Bégout, M.-L., 2014b. Assessment of genetic variability of fish personality traits using rainbow trout isogenic lines. *Behavior Genetics*, 1-11.
- Millot, S., Péan, S., Leguay, D., Vergnet, A., Chatain, B., Bégout, M.L., 2010. Evaluation of behavioral changes induced by a first step of domestication or selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach under repeated acute stress. *Aquaculture* 306, 211-217.
- Miyazaki, T., Masuda, R., Furuta, S., Tsukamoto, K., 2000. Feeding behaviour of hatchery-reared juveniles of the Japanese flounder following a period of starvation. *Aquaculture* 190, 129-138.
- Montoya, A., López-Olmeda, J.F., Yúfera, M., Sánchez-Muros, M.J., Sánchez-Vázquez, F.J., 2010. Feeding time synchronises daily rhythms of behaviour and digestive physiology in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 306, 315-321.
- Moreau, M., Arrufat, P., Latil, G., Jeanson, R., 2011. Use of radio-tagging to map spatial organization and social interactions in insects. *Journal of Experimental Biology* 214, 17-21.
- Murphy, D.L., Li, Q., Engel, S., Wichems, C., Andrews, A., Lesch, K.-P., Uhl, G., 2001. Genetic perspectives on the serotonin transporter. *Brain Research Bulletin* 56, 487-494.



N

- Naciri, M., Lemaire, C., Borsa, P., Bonhomme, F., 1999. Genetic study of the Atlantic/Mediterranean transition in seabass (*Dicentrarchus labrax*). *J Hered* 90, 591-596.
- Nespolo, R.F., Franco, M., 2007. Whole-animal metabolic rate is a repeatable trait: a meta-analysis. *Journal of Experimental Biology* 210, 3877-3878.
- Ninkovic, J., Bally-Cuif, L., 2006. The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse. *Methods* 39, 262-274.
- Novel, P., Porta, J., Fernández, J.s., Méndez, T., Gallardo-Gálvez, J.B., Béjar, J., Alvarez, M.C., 2013. Critical points for the maintenance of genetic variability over a production cycle in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 416-417, 8-14.
- Nunnally, J.C., 1967. *Psychometric Theory*. McGraw-Hill, New York.
- Nussey, D.H., Wilson, A.J., Brommer, J.E., 2007. The evolutionary ecology of individual phenotypic plasticity in wild populations. *Journal of Evolutionary Biology* 20, 831-844.

O

- Oikawa, S., Itazawa, Y., 1985. Gill and Body Surface Areas of the Carp in relation to Body Mass, With Special Reference To The Metabolism-Size Relationship. *Journal of Experimental Biology* 117, 1-14.
- Oswald, M.E., Singer, M., Robison, B.D., 2013. The quantitative genetic architecture of the bold-shy continuum in zebrafish, *Danio rerio*. *PLoS ONE* 8, e68828.
- Øverli, Ø., 2001. Behavioural and neuroendocrine effects of stress in salmonid fish. *Acta Universitatis Upsaliensis*.
- Øverli, Ø., Korzan, W.J., Höglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Forster, G.L., Barton, B.A., Øverli, E., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004a. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 45, 235-241.
- Øverli, Ø., Korzan, W.J., Larson, E.T., Winberg, S., Lepage, O., Pottinger, T.G., Renner, K.J., Summers, C.H., 2004b. Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. *Hormones and Behavior* 45, 324-329.
- Øverli, Ø., Pottinger, T.G., Carrick, T.R., Øverli, E., Winberg, S., 2002. Differences in behaviour between rainbow trout selected for high- and low-stress responsiveness. *Journal of Experimental Biology* 205, 391-395.
- Øverli, Ø., Sorensen, C., Kiessling, A., Pottinger, T., Gjoen, H., 2006a. Selection for improved stress tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leads to reduced feed waste. *Aquaculture* 261, 776 - 781.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Nilsson, G.E., 2006b. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? *Physiology & Behavior* 87, 506-512.
- Øverli, Ø., Sorensen, C., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E., 2007. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 31, 396-412.

- Øverli, Ø., Winberg, S., Damsård, B., Jobling, M., 1998. Food intake and spontaneous swimming activity in Arctic char (*Salvelinus alpinus*): role of brain serotonergic activity and social interactions. *Canadian Journal of Zoology* 76, 1366-1370.
- Øverli, Ø., Winberg, S., Pottinger, T.G., 2005. Behavioral and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout—a Review. *Integrative and Comparative Biology* 45, 463-474.

P

- Paspatis, M., Maragoudaki, D., Kentouri, M., 2002. Feed discrimination and selection in self-fed European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture Research* 33, 509-514.
- Pauly, D., Christensen, V., Guénette, S., Pitcher, T., Sumaila, U.R., 2002. Towards sustainability in world fisheries. *Nature* 418, 689-695.
- Pervin, L.A., John, O.P., 2005. La personnalité, de la théorie à la recherche.
- Petri Hoskoneen, J., 2006. Effects of repeated handling, with or without anaesthesia, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacult Res* 37, 409 - 415.
- Pianka, E.R., 1970. On r- and K-selection. *Am. Nat.* 104.
- Pickering, A., 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture* 100, 125 - 139.
- Pigliucci, M., 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology & Evolution* 20, 481-486.
- Pottinger, T., Carrick, T., 1999. Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *Gen Comp Endocrinol* 116, 122 - 132.
- Pottinger, T., Carrick, T., 2001a. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Horm Behav* 40, 419 - 427.
- Pottinger, T.G., 2001. Effects of husbandry stress on flesh quality indicator in fish, in: Kestin, S.C., Warriss, P.D. (Eds.), *Farmed fish quality*, Blackwell science, Bristol, pp. 145-160.
- Pottinger, T.G., 2003. The selection of trout for high and low responsiveness to stress: progress and prospects *Trout News*, CEFAS 36, 14-16.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 2001b. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Hormones and Behavior* 40, 419-427.
- Pottinger, T.G., Pickering, A.D., 1997. Genetic Basis to the Stress Response: Selective Breeding for Stress-tolerant Fish, In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.). *Fish Stress and Health in Aquaculture*, Cambridge University Press, Cambridge, 171-193.
- Price, E.O., 1984. Behavioural aspects of animal domestication. *Quarterly Review of Biology* . 59.
- Price, E.O., 1998. Behavior genetics and the process of animal domestication. In T.Grandin, editor. *Genetics and the behavior of domestic animals*. Academic Press, New York, 31-65.
- Price, E.O., 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science* 65, 245-271.
- Price, E.O., 2002. *Animal domestication and behavior*. CABI Publishing, New York, 297 pp.



- Price, E.O., King, J.A., 1968. Domestication and adaptation. In: Hafez, E.S.S. (ed.). Adaptation of domestic Animals. Lea & Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, pp 34-35.
- Price, T., Langen, T., 1992. Evolution of correlated characters. Trends in Ecology & Evolution 7, 307-310.
- Puglisi-Allegra, S., Andolina, D., Serotonin and stress coping. Behavioural Brain Research.
- Pulliam, R., Caraco, T., 1984. Living in groups: is there an optimal group size?, in: Krebs, J.R., Davies, N.B. (Eds.), Behavioral Ecology: an evolutionary approach, Sinauer.

Q

- Quero, J.-C., Porche, P., Vayne, J.-J., 2003. Guide des poissons de l'Atlantique européen : identifier 955 espèces. Les guides du naturaliste, Delachaux & Niestlé, Paris., 465 pp.
- Quillet, E., Krieg, F., Dechamp, N., Hervet, C., Bérard, A., Le Roy, P., Guyomard, R., Prunet, P., Pottinger, T.G., 2014. Quantitative trait loci for magnitude of the plasma cortisol response to confinement in rainbow trout. Animal Genetics 45, 223-234.
- Quinn, J.L., Cresswell, W., 2005. Personality, anti-predation behaviour and behavioural plasticity in the chaffinch *Fringilla coelebs*. Behaviour 142, 1377-1402.

R

- Réale, D., Dingemanse, N.J., 2010. Personality and individual social specialisation. Social Behaviour: Genes, Ecology and Evolution, 527-557.
- Réale, D., Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Wright, J., 2010a. Evolutionary and ecological approaches to the study of personality. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 365, 3937-3946.
- Réale, D., Garant, D., Humphries, M.M., Bergeron, P., Careau, V., Montiglio, P.-O., 2010b. Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 365, 4051-4063.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J., 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 82, 291-318.
- Renner, M.J., 1990. Neglected aspects of exploratory and investigatory behaviour. . Psychobiology 18, 16-22.
- Rexroad, C., Vallejo, R., Liu, S., Palti, Y., Weber, G., 2012. QTL affecting stress response to crowding in a rainbow trout broodstock population. BMC Genetics 13, 97.
- Rey, S., Boltana, S., Vargas, R., Roher, N., MacKenzie, S., 2013. Combining animal personalities with transcriptomics resolves individual variation within a wild-type zebrafish population and identifies underpinning molecular differences in brain function. Molecular Ecology 22, 6100-6115.
- Reyes-Tomassini, J.J., 2009. Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Sex Change in the Gilthead Seabream *Sparus aurata*. Biotechnology Institute University of Maryland, 229.

- Reznick, D.N., Bryant, M.J., Bashey, F., 2002. r- and K selection revisited: the role of population regulation in life history evolution. *Ecology* 83, 1509-1520.
- Reznick, D.N., Rodd, F.H., Cardenas, M., 1996. Lifehistory evolution in guppies (*Poecilia reticulata*: Poeciliidae). IV. Parallelism in life-history phenotypes. *Am. Nat.* 147.
- Rønning, B., Moe, B., Bech, C., 2005. Long-term repeatability makes basal metabolic rate a likely heritable trait in the zebra finch *Taeniopygia guttata*. *Journal of Experimental Biology* 208, 4663-4669.
- Rotllant, J., Ruane, N.M., Caballero, M.J., Montero, D., Tort, L., 2003. Response to confinement in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is characterised by an increased biosynthetic capacity of interrenal tissue with no effect on ACTH sensitivity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 136, 613-620.
- Rubio, V.C., Vivas, M., Sanchez-Mut, A., Sanchez-Vazquez, F.J., Coves, D., Dutto, G., Madrid, J.A., 2004. Self-feeding of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) under laboratory and farming conditions using a string sensor. *Aquaculture* 233, 393-403.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Huntingford, F.A., Øverli, Ø., Thörnqvist, P.-O., Höglund, E., 2011. Response to environmental change in rainbow trout selected for divergent stress coping styles. *Physiology & behavior* 102, 317-322.
- Ruiz-Gomez, M.d.L., Kittilsen, S., Höglund, E., Huntingford, F.A., Sørensen, C., Pottinger, T.G., Bakken, M., Winberg, S., Korzan, W.J., Øverli, Ø., 2008. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: When doves become hawks. *Hormones and Behavior* 54, 534-538.
- Ruxton, G.D., Colegrave, N., 2006. *Experimental design for the life sciences*, 2 edn. Oxford: Oxford university press.
- Ruzzante, D.E., 1994. Domestication effects on aggressive and schooling behavior in fish. *Aquaculture* 120, 1-24.

S

- Saillant, E., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Chatain, B., 2006. Estimates of heritability and genotype environment interactions for body weight in seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) raised under communal rearing conditions. *Aquaculture* 254 139-147.
- Saillant, E., Fostier, A., Haffray, P., Menu, B., Laureau, S., Thimonier, J., Chatain, B., 2003. Effects of rearing density, size grading and parental factors on sex ratios of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in intensive aquaculture. *Aquaculture* 221, 183-206.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Azzaydi, M., Martínez, F.J., Zamora, S., Madrid, J.A., 1998. Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology International* 15, 607-622. .
- Sanchez-Vazquez, F.J., Madrid, J.A., Zamora, S., 1995. Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: Dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. *Journal of Biological Rhythms* 10, 256-266.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Martínez, M., Zamora, S., Madrid, J.A., 1994. Design and performance of an accurate demand feeder for the study of feeding behaviour in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Physiology & Behavior* 56, 789-794.



- Sarkar, S., 1999. From the Reaktionsnorm to the adaptive norm: the norm of reaction. *Biol. Philos* 14, 235-252.
- Schjolden, J., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Metcalfe, N.B., Winberg, S., 2006. Divergence in locomotor activity between two strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* with contrasting stress responsiveness. *Journal of Fish Biology* 68, 920-924.
- Schlichting, C.D., Pigliucci, M., 1998. Phenotypic evolution: A reaction norm perspective, Sinauer.
- Selye, H., 1950. The Physiology and Pathology of Exposures to Stress. . Acta Medica Publ., Montreal.
- Shannon, N.J., Gunnet, J.W., Moore, K.E., 1986. A comparison of biochemical indices of 5-Hydroxytryptaminergic neuronal activity following electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus. *Journal of Neurochemistry* 47, 958-965.
- Sih, A., Bell, A., Chadwick Johnson, J., 2004a. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 372-378.
- Sih, A., Bell, A.M., 2008. Chapter 5 Insights for Behavioral Ecology from Behavioral Syndromes, in: H. Jane Brockmann, T.J.R.M.N.K.E.W.-E.C.B., John, C.M. (Eds.), *Advances in the Study of Behavior*, Academic Press, pp. 227-281.
- Sih, A., Bell, A.M., Johnson, J.C., Ziemba, R.E., 2004b. Behavioral Syndromes: An Integrative Overview. *The Quarterly Review of Biology* 79, 241-277.
- Sih, A., Kats, L.B., Maurer, E.F., 2003. Behavioural correlations across situations and the evolution of antipredator behaviour in a sunfish-salamander system. *Animal Behaviour* 65, 29-44.
- Silva, P.I.M., Martins, C.I.M., Engrola, S., Marino, G., Øverli, Ø., Conceição, L.E.C., 2010. Individual differences in cortisol levels and behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behaviour Science* 124, 75-81.
- Sluyter, F., Bult, A., Lynch, C., van Oortmerssen, G., Koolhaas, J., 1995. A comparison between house mouse lines selected for attack latency or nest-building: Evidence for a genetic basis of alternative behavioral strategies. *Behavior Genetics* 25, 247-252.
- Smiseth, P.T., et al., 2008. Parent-offspring conflict and co-adaptation: behavioural ecology meets quantitative genetics. *Proc. R. Soc. Lond. B* 275, 1823-1830.
- Sneddon, L.U., 2003. The bold and the shy: individual differences in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 62 971-975.
- Stamps, J., Groothuis, T.G.G., 2010. The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. *Biological Reviews* 85, 301-325.
- Stamps, J.A., 2007. Growth-mortality tradeoffs and 'personality traits' in animals. *Ecology Letters* 10, 355-363.
- Stamps, J.A., Briffa, M., Biro, P.A., 2012. Unpredictable animals: individual differences in intraindividual variability (IIV). *Animal Behaviour* 83, 1325-1334.
- Stephan, F.K., 2002. The "other" circadian system: Food as a Zeitgeber. *Journal of Biological Rhythms* 17, 284-292.
- Stirling, H.P., 1977. Growth, food utilization and effect of social interaction in the European bass *Dicentrarchus labrax*. *Mar. Biol.* 40, 173-184.
- Stöwe, M., Rosivall, B., Drent, P.J., Möstl, E., 2010. Selection for fast and slow exploration affects baseline and stress-induced corticosterone excretion in Great tit nestlings, *Parus major*. *Hormones and Behavior* 58, 864-871.

- Strand, A., C., , Magnhagen, A., Alanärä, A., 2011. Growth and energy expenditures of Eurasian perch *Perca fluviatilis* (Linnaeus) in Different Temperatures and of Different Body Sizes. *J Aquac Res Development* 2, 114.
- Stryjek, R., Modlińska, K., Pisula, W., 2012. Species specific behavioural patterns (Digging and Swimming) and reaction to novel objects in wild type, wistar, sprague-dawley and brown norway rats. *PLoS ONE* 7, e40642.
- Summerfelt, R.C., Smith, L.S., 1990. Anesthesia, surgery, and related techniques. *Methods for fish biology: American Fisheries Society, Bethesda, Maryland*, 213-272.
- Sundström, L.F., Petersson, E., Höjesjö, J., Johnsson, J.I., Järvi, T., 2004. Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance. *Behavioral Ecology* 15, 192-198.

T

- Teletchea, F., Fontaine, P., 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. *Fish and Fisheries* 15, 181-195.
- Terlouw, E.M.C., 2002. Stress des animaux et qualités de leurs viandes. Rôles du patrimoine génétique et de l'expérience antérieure. *INRA Production Animale* 15, 125-133.
- Thetmeyer, H., Waller, U., Black, K.D., Inselmann, S., Rosenthal, H., 1999. Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions. *Aquaculture* 174, 355-367.
- Tian, X., Qin, J.G., 2003. A single phase of food deprivation provoked compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 224, 169-179.
- Toms, C.N., Echevarria, D.J., Jouandot, D.J., 2010. A methodological review of personality-related studies in fish: focus on the shy-bold axis of behavior. *International Journal of Comparative Psychology* 23, 1-25.
- Tortonese, E., 1986. Moronidae. In P.J.P. Whitehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds.) *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris. vol. 2., p. 793-796.
- Troy, C., MacHugh, D.E., Baird, J.F., Magee, D.A., Loftus, R.G., Cunningham, P., 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410, 1088-1091.
- Tulley, J.J., Huntingford, F.A., 1987. Paternal care and the development of adaptive variation in anti-predator responses in sticklebacks. *Animal Behaviour* 35, 1570-1572.
- Tveteras, R., Nystoyl, R., 2011. *Fish production Estimates & trends 2011–2012* Santiago, Chile.

V

- van Oers, K., de Jong, G., van Noordwijk, A.J., Kempenaers, B., Drent, P.J., 2005. Contribution of genetics to the study of animal personalities: a review of case studies. *Behaviour* 142, 1191-1212.



- van Oers, K., Drent, P.J., de Goede, P., van Noordwijk, A.J., 2004. Realized heritability and repeatability of risk-taking behaviour in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271, 65-73.
- Van Raaij, M.T.M., Pit, D.S.S., Balm, P.H.M., Steffens, A.B., Van den Thillart, G., 1996a. Behavioral strategy and the physiological stress response in rainbow trout exposed to severe hypoxia; *Horm. Behav.* 30, 85–92. *Hormone and Behaviour* 30, 85-92.
- Van Raaij, M.T.M., Vianen, G.J., Van den Thillart, G., 1996b. Blood gas parameters and the responses of erythrocytes in carp exposed to deep hypoxia and subsequent recovery. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 7, 453-460.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Chatain, B., Chevassus, B., 2001. Setting up a strain-testing design for the seabass, *Dicentrarchus labrax*: a simulation study. *Aquaculture* 202, 329-342.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Chavanne, H., B., C., 2007. A polygenic hypothesis for sex determination in the European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Genetics* 176, 1049-1057.
- Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Chavanne, H., Cenadelli, S., Parati, K., Vidal, M.-O., Vergnet, A., Chatain, B., 2009. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in separate and mixed tanks. *Aquaculture* 286, 20-27.
- Vandeputte, M., Garouste, R., Dupont-Nivet, M., Haffray, P., Vergnet, A., Chavanne, H., Laureau, S., Ron, T.B., Pagelson, G., Mazorra, C., Ricoux, R., Marques, P., Gameiro, M., Chatain, B., 2014. Multi-site evaluation of the rearing performances of 5 wild populations of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 424–425, 239-248.
- Vandeputte, M., Launey, S., 2004. Quelle gestion génétique de la domestication chez les poissons? *INRA Production Animale* 17, 237-242.
- Vandeputte, M., Mauger, S., Dupont-Nivet, M., 2006. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. *Molecular Ecology Notes* 6, 265-267.
- Vandeputte, M., Prunet, P., 2002. Génétique et adaptation chez les poissons : domestication, résistance au stress et adaptation aux conditions de milieu. *INRA Productions Animales* 15, 365-371.
- Vandeputte, M., Rossignol, M.N., Pincet, C., 2011. From theory to practice: empirical evaluation of the assignment power of marker sets for pedigree analysis in fish breeding. *Aquaculture* 314, 80-86.
- Vaz-Serrano, J., Ruiz-Gomez, M.L., Gjøen, H.M., Skov, P.V., Huntingford, F.A., Overli, O., Höglund, E., 2011. Consistent boldness behaviour in early emerging fry of domesticated Atlantic salmon (*Salmo salar*): Decoupling of behavioural and physiological traits of the proactive stress coping style. *Physiol Behav* 103, 359-364.
- Vazire S., Gosling S. D., 2004. Personality and temperament: A comparative perspective. In M. Bekoff (Ed.), *Encyclopedia of animal behavior.*, pp. 818-822.
- Veenema, A., Cremers, T., Jongsma, M., Steenbergen, P., de Boer, S., Koolhaas, J., 2005a. Differences in the effects of 5-HT(1A) receptor agonists on forced swim-ming behavior and brain 5-HT metabolism between low and high aggressivemice. *Psychopharmacology (Berl)* 178:151-60.
- Veenema, A., Koolhaas JM, de Kloet, E., 2004. Basal and stress-induced differences in HPA axis, 5-HT responsiveness, and hippocampal cell proliferation in twomouse lines. *Ann NY Acad Sci* 1018, 255–265.

- Veenema, A.H., Meijer, O.C., de Kloet, E.R., Koolhaas, J.M., 2003a. Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. *Journal of Neuroendocrinology* 15, 256-267.
- Veenema, A.H., Meijer, O.C., de Kloet, E.R., Koolhaas, J.M., Bohus, B.G., 2003b. Differences in basal and stress-induced HPA regulation of wild house mice selected for high and low aggression. *Hormones and Behavior* 43, 197-204.
- Veenema, A.H., Sijtsma, B., Koolhaas, J.M., Ronald de Kloet, E., 2005b. The stress response to sensory contact in mice: genotype effect of the stimulus animal. *Psychoneuroendocrinology* 30, 550-557.
- Veissier, I., Beaumont, C., Lévy, F., 2007. Les recherches sur le bien-être animal : buts, méthodologies et finalité. *INRA Productions Animales* 20, 3-10.
- Verbeek, M.E.M., Boon, A., Drent, P.J., 1996. Exploration, aggressive behaviour and dominance in pair-wise confrontations of juvenile male great tits. *Behaviour* 133, 945-963.
- Verbeek, M.E.M., Drent, P.J., Wiepkema, P.R., 1994. Consistent individual differences in early exploratory behaviour of male great tits. *Animal Behaviour* 48, 1113-1121.
- Vexliard, A., 1957. Le clochard. Étude de psychologie sociale. Paris : Desclée de Brouwer.

W

- Weis, A.E., Gorman, W.L., 1990. Measuring selection on reaction norms - an exploration of the *Eurosta solidago* system. *Evolution* 44, 820-831.
- Weiss, J.M., 1972. Influence of psychological variables on stress-induced pathology. In: Porter, R., Knight, J. (Eds.), *Physiology, Emotion and Psychosomatic Illness*. CIBA Foundation Symposium. Elsevier, Amsterdam.
- Wemelsfelder, F., Haskell, M., Mendl, M.T., Calvert, S., Lawrence, A.B., 2000. Diversity of behaviour during novel object tests is reduced in pigs housed in substrate-impovertished conditions. *Animal Behaviour* 60, 385-394.
- Wendelaar Bonga, S., 1997. The stress response in fish. *Physiol Rev* 77, 591 - 625.
- White, J.R., Meekan, M.G., McCormick, M.I., Ferrari, M.C.O., 2013. A Comparison of measures of boldness and their relationships to survival in young fish. *PLoS ONE* 8, e68900.
- Whitehead, A., Crawford, D., 2006. Variation within and among species in gene expression: raw material for evolution. *Molecular Ecology* 15.
- Williams, T.D., 2008. Individual variation in endocrine systems: moving beyond the “tyranny of the Golden Mean”. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 363, 1687-1698.
- Wilson, A.D.M., Godin, J.-G.J., 2009. Boldness and behavioral syndromes in the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, pp. 231-237.
- Wilson, A.D.M., Stevens, E.D., 2005. Consistency in Context-specific Measures of Shyness and Boldness in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ethology* 111, 849-862.
- Wilson, A.M., Whattam, E., Bennett, R., Visanuvimol, L., Lauzon, C., Bertram, S., 2010. Behavioral correlations across activity, mating, exploration, aggression, and antipredator contexts in the European house cricket, *Acheta domesticus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64, 703-715.
- Wilson, D.S., 1998. Adaptive individual differences within single populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 353, 199-205.



- Wilson, D.S., Clark, A.B., Coleman, K., Dearstyne, T., 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 442-446.
- Winberg, S., Nilsson, G.E., 1993. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 106, 597-614.
- Wolf, M., Van Doorn, S., Leimar, O., Weissing, F.J., 2007. Life-history trade-offs favour the evolution of animal personalities. *Nature*, 581-585.
- Wray, M., Seeley, T., 2011. Consistent personality differences in house-hunting behavior but not decision speed in swarms of honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65, 2061-2070.
- Wright, D., Nakamichi, R., Krause, J., Butlin, R., 2006. QTL Analysis of Behavioral and Morphological Differentiation Between Wild and Laboratory Zebrafish (*Danio rerio*). *Behavior Genetics* 36, 271-284.

Y

- Yang, M., Silverman, J.L., Crawley, J.N., 2001. Automated Three-Chambered Social Approach Task for Mice, *Current Protocols in Neuroscience*, John Wiley & Sons, Inc.
- Yoshida, M., Nagamine, M., Uematsu, K., 2005. Comparison of behavioral responses to a novel environment between three teleosts, bluegill *Lepomis macrochirus*, crucian carp *Carassius langsdorfii*, and goldfish *Carassius auratus*. *Fisheries Science* 71, 314-319.

Caractérisation, variabilité et héritabilité des traits de personnalité chez les téléostéens. Cas du bar européen, *Dicentrarchus labrax*.

Résumé

Cette thèse est organisée en trois parties principales. La première partie de cette thèse a permis de mettre en évidence l'existence de coping style chez le bar, révélant des liens entre réponses comportementales et physiologiques suite à un stress. Les individus proactifs montraient une plus faible activation de l'axe HPI, résultant en une moindre augmentation des taux de cortisol plasmatiques après un stress que les individus réactifs. Cependant, les liens entre traits de personnalité et activation des systèmes dopaminergiques et sérotoninergiques n'ont pas pu être clairement mis en évidence. Les tests individuels se sont révélés discriminants de la personnalité, mais n'ont pas permis d'observer des réponses cohérentes dans le temps en raison du caractère stressant de l'isolation chez cette espèce sociale. L'utilisation de tests en groupe est apparue mieux adaptée et a permis de caractériser un nombre important d'individu, étape nécessaire à toutes études visant à caractériser la variabilité génétique des traits comportementaux. La variabilité observée met en avant d'importantes capacités d'adaptation chez cette espèce. La seconde partie a mis en avant l'existence de liens entre traits de personnalité et stratégies d'approvisionnement en nourriture. L'analyse de la structure sociale chez cette espèce a mis en évidence une stratégie coopérative concernant l'acquisition de la nourriture avec une spécialisation de certains individus dans le groupe. Enfin, la troisième partie a permis l'observation de liens génétiques entre traits de personnalité et caractères phénotypiques, laissant entrevoir une possible sélection des caractères de personnalité dans un contexte de production piscicole. Le niveau de domestication s'est révélé avoir une influence sur les liens entre personnalité et potentiel de croissance. L'utilisation de ces coping style et traits de personnalité pourrait être un outil supplémentaire pour améliorer le processus de domestication, permettant par exemple la sélection de coping styles divergents qui pourraient correspondre à des individus plus résistants aux maladies, ou mieux adaptés à leur environnement.

Characterization, variability and heritability of personality traits in teleosts. A case study on European seabass, *Dicentrarchus labrax*.

Abstract

This thesis is organized in three principal parts. The first part of this thesis highlights the existence of coping style in seabass, revealing links between behavioral and physiological responses following a stress. The proactive individuals showed a weaker activation of the HPI axis, resulting in a lesser increase of plasmatic cortisol levels after a stress compared to reactive fish. However, the links between personality traits and activation of the dopaminergic and serotonergic systems could not be clearly demonstrated. The individual tests appeared discriminating personality, but did not allow observing coherent responses in time likely because of the stressing character of the isolated situation in this social species. The use of tests in group appeared better adapted and made it possible to characterize a significant number of individual, a necessary step when one aims at characterizing the genetic variability of the behavioral traits. Finally, variability observed underlined important adaptation capacities of this species. The second part demonstrated the existence of links between personality traits and feeding strategies. The analysis of the social structure highlighted a co-operative strategy concerning the acquisition of food with a specialization of certain individuals in the group. Lastly, the third part showed genetic correlations between coping styles, personality traits and phenotypes, letting foresee a possible selection of the personality traits in a production context. The level of domestication proved to have an influence on the links between personality and growth potential. The use of all these coping style and personality traits could be an additional tool to improve the process of domestication, allowing for example the selection of divergent coping styles which could correspond to individuals more resistant to diseases, or better adapted to their environment.



IFREMER, Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer
Laboratoire Ressources Halieutiques de La Rochelle
Place Gaby Coll, 17137 L'Houmeau (France)